

PURINMETABOLITEN IM PLASMA VON ZWERGZIEGEN
UNTER BELASTUNGSZUSTÄNDEN

HUBERT RAINER

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554619_0053

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. D. Giesecke

Purinmetaboliten im Plasma von Zwergziegen
unter Belastungszuständen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hubert Rainer
aus
München

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. D. Giesecke

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. F. Graf

Tag der Promotion: 27. Februar 1987

Meiner Frau
in Dankbarkeit

1. EINLEITUNG

1.1.	Allgemeine Grundlagen des Purinstoffwechsels	1
1.2.	Stoffwechsel der Nucleinsäuren im Pansen	4
1.3.	Stoffwechsel und Verdauung der Nucleinsäuren im Dünndarm	5
1.4.	Nucleinsäurekomponenten im Blut	6
1.5.	Ausscheidung der Nucleinsäuremetaboliten über den Harn	8
1.6.	Problemstellung	8

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1.	Tiermaterial, Haltung und Fütterung	11
2.2.	Durchführung der Versuche	11
2.2.1.	Adrenalin-/Noradrenalin-Versuch	11
2.2.2.	Hunger-/Phlorizin-Versuch	12
2.3.	Probengewinnung	13
2.4.	Bestimmung der Purinmetaboliten	14
2.4.1.	Probenvorbereitung	14
2.4.2.	Bestimmung von Allantoin im Plasma	15
2.4.3.	Bestimmung von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin im Plasma	17
2.4.4.	Auswertung	20
2.4.5.	Überprüfung der methodischen Bedingungen	21
2.5.	Bestimmung der Freien Fettsäuren	23
2.6.	Bestimmung von Glucose im Plasma	24
2.7.	Statistische Methoden	24

3. ERGEBNISSE

3.1.	Adrenalin-/Noradrenalin-Versuch	25
3.1.1.	Purinmetaboliten im Plasma unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung	25
3.1.1.1.	Harnsäure	25
3.1.1.2.	Hypoxanthin	25
3.1.1.3.	Xanthin	28
3.1.1.4.	Allantoin	30

	Seite
3.1.2. Freie Fettsäuren im Plasma unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung	30
3.1.3. Glucose im Plasma unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung	34
3.1.4. Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung	37
3.2 Purinmetaboliten, Freie Fettsäuren und Glucose im Plasma unter Normalbedingungen (Tagesprofil)	38
3.3. Hunger-/Phlorizin-Versuch	41
3.3.1. Purinmetaboliten im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes	41
3.3.1.1. Harnsäure	41
3.3.1.2. Hypoxanthin	41
3.3.1.3. Xanthin	44
3.3.1.4. Allantoin	44
3.3.2. Freie Fettsäuren im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes	50
3.3.3. Glucose im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes	54
3.3.4. Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes	54
4. DISKUSSION	60
5. ZUSAMMENFASSUNG	68
SUMMARY	70
6. LITERATURVERZEICHNIS	72
7. TABELLENANHANG	81

1. Einleitung

1.1. Allgemeine Grundlagen des Purinstoffwechsels

Purine sind essentielle Bestandteile von pflanzlichen und tierischen Zellen. Ihr Grundgerüst besteht aus einem Pyrimidin- und einem Imidazolring, woraus sich durch Substitution verschiedener Liganden eine Vielzahl von Verbindungen ableiten läßt.

Adenin, Hypoxanthin, Xanthin und Guanin stellen die körpereigenen Vertreter dar und werden als freie Basen bezeichnet. Über die Koppelung an ein Zuckermolekül (Ribose bzw. Desoxyribose) leiten sich daraus die entsprechenden Nucleoside ab: Adenosin, Inosin, Xanthosin und Guanosin. Die Phosphorsäureester der Nucleoside werden als Nucleotide bezeichnet: Adenosinmonophosphat (AMP), Inosinmonophosphat (IMP), Xanthosinmonophosphat (XMP) sowie Guanosinmonophosphat (GMP) (KARLSON, 1980).

Die Nucleotide spielen eine wichtige Rolle als Bausteine der Nucleinsäuren in der Speicherung der Erbinformation, in der Proteinbiosynthese und als energiereiche Nucleosidtriphosphate bei der Energieübertragung in der Zelle.

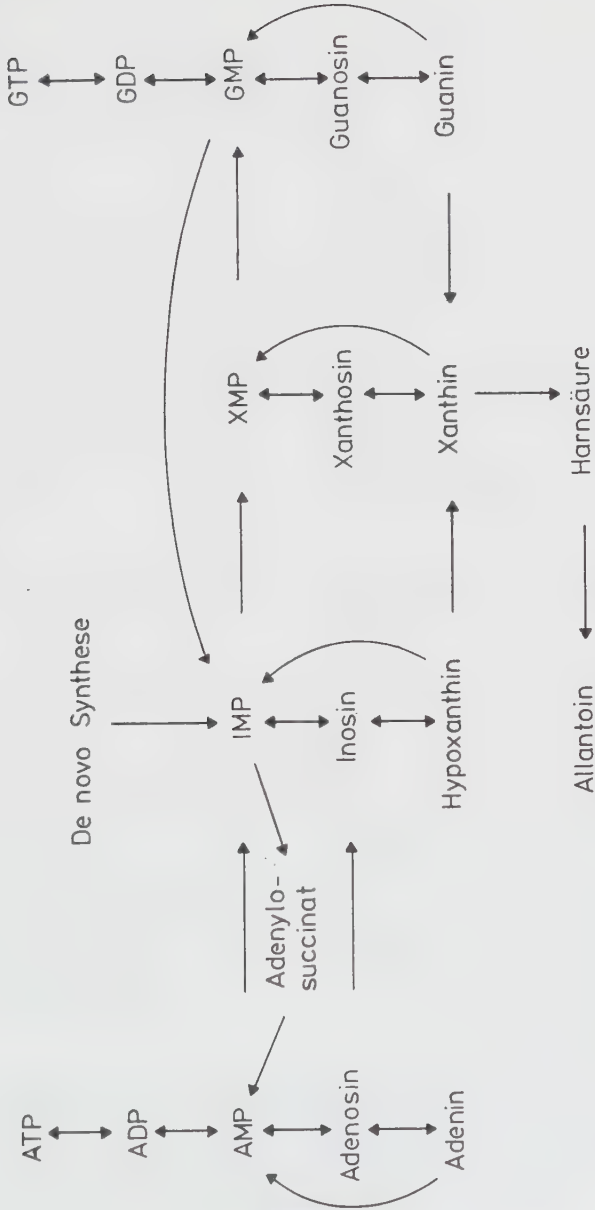
Die meisten Zellen können die Purine nach einem komplizierten Reaktionsmechanismus selbst aufbauen (De novo-Synthese). Ausgehend von Ribose-5-Phosphat wird über 5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat (PRPP) Inosin-5'-Monophosphat (IMP) synthetisiert. Als Donatoren der jeweiligen C- bzw. N-Atome des Puringerüsts gelten Glutamin, Glycin, Formiat, Aspartat sowie CO₂. IMP stellt den Ausgangspunkt für die Synthese der anderen Purinnucleotide dar (LOEFFLER, 1975).

Der Abbau der Nucleotide erfolgt durch enzymatische Abspaltung der Phosphorsäure (5'-Nucleotidase: EC 3.1.3.5.). Die Nucleoside wiederum werden durch Purinnucleosid-Phosphorylasen (EC 2.4.2.1.) in die entsprechenden Basen sowie Ribose gespalten. Guanase (EC 3.5.4.3.) wandelt Guanin durch Desaminierung in Xanthin um. Hypoxanthin wird durch Xanthinoxidase (EC 1.2.3.2.) zu Xanthin und nachfolgend zu Harnsäure abgebaut. Durch Uricase (EC 1.7.3.3.) wird Urat in Allantoin umgewandelt (vgl. Abbildung 1).

Bei Primaten, Vögeln und einigen Reptilien stellt die schwer wasserlösliche Harnsäure bereits das Endprodukt des Purinstoffwechsels dar und wird über den Harn ausgeschieden. Bei den übrigen Säugern wird Harnsäure zum gut wasserlöslichen Allantoin abgebaut und ebenfalls über den Harn ausgeschieden. Der Dalmatiner nimmt mit der Ausscheidung von Harnsäure und Allantoin eine Sonderstellung ein (MAIER, 1979). Viele niedere Tiere können Allantoin und Allantoinsäure zu Harnstoff und Glyoxylsäure, teilweise sogar bis zu Ammoniak und CO₂ abbauen (SÖRENSEN, 1965).

Neben dem Abbau der Purinbasen zu den entsprechenden Endprodukten des Purinstoffwechsels besteht auch die Möglichkeit einer Wiederverwertung des Puringerüstes. Für die Reutilisierung der Purinbasen Adenin, Hypoxanthin sowie Guanin stehen zwei Enzyme zur Verfügung. Durch Adenin-Phosphoribosyl-Transferase (APRTase, EC 2.4.2.7.) wird Adenin in AMP umgewandelt, und durch Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase (HGPRTase, EC 2.4.2.8.) werden aus Hypoxanthin oder Guanin die entsprechenden Nucleotide IMP bzw. GMP gebildet. Für beide Enzymreaktionen gilt PRPP als Donator des Phosphoribosylrestes (LOEFFLER, 1975) (vgl. Abbildung 1).

Abbildung 1: Schema des Purinstoffwechsels
umgezeichnet nach Watts (1981)



1.2. Stoffwechsel der Nucleinsäuren im Pansen

Die bei weitem größte Quelle an Nucleinsäuren, die in den Pansen gelangen, stellt das Futter dar. Darüber hinaus könnten Sekrete der Pansenschleimhaut sowie abgestoßene Schleimhautzellen zum Nucleinsäurenachschub beitragen, aber wahrscheinlich sind diese Mengen sehr gering (McALLAN, 1982).

Wenn freie RNS oder DNS an ruminierende Lämmer verfüttert wurde, so wurde diese im Pansen fast vollständig abgebaut und daraus mikrobielle Nucleinsäure synthetisiert (RAZZAQUE und TOPPS, 1972). Nach der Gabe von RNS oder DNS in den Pansen von jungen Ochsen wurde diese schnell abgebaut, wobei vorübergehend geringe Mengen an Oligonucleotiden, Nucleosiden und Basen auftraten (McALLAN und SMITH, 1973 a).

Bei in vitro-Versuchen mit Panseninhalt von Kühen, Schafen und Ochsen wurden unter anaerober Inkubation ähnliche, aber langsamere Abbauvorgänge festgestellt. RNS wurde innerhalb 1 Stunde zu Oligo- und Mononucleotiden sowie Nucleosiden und Basen abgebaut. Nach 4 Stunden verblieben nur noch die Basen Xanthin, Hypoxanthin und Uracil. DNS wurde ähnlich abgebaut, wobei jedoch noch nach 4 Stunden Oligo- und Mononucleotide einen beträchtlichen Anteil der Abbauprodukte ausmachten. Darüber hinaus wurden die Basen Thymin, Hypoxanthin, Uracil und Xanthin gefunden (McALLAN und SMITH, 1973 a und 1973 b). Aus Heu wurden unter Inkubation mit Pansensaft Nucleinsäuren freigesetzt und zu Nucleotiden, Nucleosiden und Basen abgebaut (McALLAN und SMITH, 1973 a).

Zur Klärung der Stoffwechselwege beim Nucleinsäureabbau im Pansen wurden Nucleotide, Nucleoside und Basen unter anaeroben Bedingungen mit Pansensaft inkubiert (McALLAN und SMITH, 1973 b). Dabei zeigte sich, daß jeweils

Purine mit einer seitlichen Aminogruppe desaminiert wurden. Adenin wurde auf der Stufe der Nucleoside in Inosin umgewandelt und zu Hypoxanthin abgebaut. Guanosin wurde zuerst zu Guanin abgebaut und dann unter Abspaltung der seitlichen Aminogruppe in Xanthin umgewandelt. Xanthin, Uracil, Hypoxanthin und Thymin widerstanden einem weiteren Abbau.

Wie bereits erwähnt, werden die Nahrungsnucleinsäuren im Pansen freigesetzt und abgebaut. Unterstützt wird diese Aussage durch die Feststellung, daß das Verhältnis RNS : DNS im Panseninhalt dem in Proben aus gemischten Pansenbakterien ähnlich ist. Dies deutete an, daß die Nucleinsäuren im Pansen vor allem mikrobiellen Ursprungs sind (SMITH und McALLAN, 1970). SMITH et al. (1978) zeigten jedoch, daß bei jungen Ochsen mit nahezu gleicher Fütterung bis zu 15 % der ins Duodenum gelangenden RNS nicht-mikrobiellen Ursprungs war.

1.3. Stoffwechsel und Verdauung der Nucleinsäuren im Dünndarm

Bei Versuchen an jungen Ochsen wurde festgestellt, daß ~ 85 % der Nucleinsäuren, die über den Verdauungstrakt vom Pansen in den Dünndarm gelangten, mikrobiellen Ursprungs waren (SMITH et al., 1978). Die scheinbare Verdaulichkeit der Nucleinsäuren zwischen Duodenum und Ileum lag bei jungen Ochsen bei ~ 85 bis 90 % RNS und ~ 75 bis 80 % DNS (SMITH und McALLAN, 1971; McALLAN, 1980). Die wahre Verdaulichkeit dürfte bei Berücksichtigung von Zellmauser, Zellabrieb sowie Sekretion höher sein (McALLAN, 1982).

Einen Überblick über die Enzyme, die für die Verdauung der Nucleinsäuren im Dünndarm der Wiederkäuer verantwortlich sind, gab McALLAN (1982). Danach kommen

Nucleinsäure abbauende Enzyme im Pankreassekret und in der Dünndarmmukosa vor. Ihre wichtigsten Vertreter sind die Pankreasribonucleasen (EC 3.1.4.22.) sowie -desoxyribonucleasen (EC 3.1.4.5.).

McALLAN (1980) gab an, daß mindestens 97 % der freien Nucleinsäuren, die in den Dünndarm von Ochsen infundiert wurden, abgebaut würden. Bei diesen Versuchen wurden Adenin, Guanin und Uracil vollständig, Thymin und Xanthin zu ~80 - 95 % und Hypoxanthin sowie Cytosin zu nur 51 und 48 % entfernt. Nucleotide sowie Nucleoside wurden ebenfalls entfernt, aber in unterschiedlichem Ausmaß. Zum Teil wurden sie durch ihre Abbauprodukte ersetzt.

Durch in vitro-Versuche am Jejunum von Lämmern zeigten SCHARRER et al. (1981), daß Hypoxanthin aktiv von der mukösen zur serösen Seite transportiert wird. Hypoxanthin, Adenosin, Uracil und Thymin konkurrierten offensichtlich um einen gemeinsamen Transportmechanismus.

1.4. Nucleinsäurekomponenten im Blut

Infusionen von Purinbasen ins Duodenum von Ochsen ergaben einen dosis-abhängigen Anstieg von Harnsäure und Allantoin im Plasma (McALLAN, 1980). KAPLAN und POBIRSKII (1974) stellten an Bullen fest, daß zwischen der Nucleinsäurekonzentration im Pansen und dem Gehalt an Allantoin und freier Harnsäure im Plasma eine enge Beziehung besteht. Nach Futterentzug fiel die Allantoinkonzentration im Plasma deutlich ab.

ROUBICEK et al. (1970) zeigten an Weiderindern, daß die Harnsäurekonzentration im Blut deutlich vom Alter der Tiere beeinflußt wurde. Dies wurde auf Variationen im Ernährungszustand sowie in der klimatischen Umgebung während des Versuchszeitraumes zurückgeführt.

Bisher gibt es kaum Arbeiten über Enzyme, die den Nucleinsäurestoffwechsel der Wiederkäuer beeinflussen. Lediglich MORGAN (1926) sowie AL-KHALIDI und CHAGLIASSIAN (1965) berichteten, daß Rinder merkliche Mengen an Xanthinoxidase in Blut, Milz, Leber, Niere und Darm enthalten, wogegen bei Schaf und Ziege das Enzym hauptsächlich auf die Leber beschränkt ist.

ELLIS und BLEICHNER (1969) zeigten als erste, daß Purine aus dem Darm in die Nucleinsäuren der Gewebe eingebaut werden. In anderen Versuchen (SMITH et al., 1974) wurde Schafen radioaktiv markierte RNS, Adenin und Guanin in den Pansen infundiert. Nach 24 Stunden wurden 5 % der Aktivität in Leber, Niere und Milz sowie weitere 20 % in den Muskeln gemessen. Ähnliche Ergebnisse konnten RAZZAQUE et al. (1981) an Lämmern vorweisen, wobei sie mit 8 -¹⁴C-Adenin markierte Bakterien in den Pansen injizierten. Sie fanden bei nichtruminierenden Lämmern 29 % sowie bei ruminierenden Lämmern 47 % der Aktivität im Gewebe wieder. Diese Arbeiten zeigten, daß Purine aus dem Darm als Vorstufen für die Synthese von Nucleinsäuren im Gewebe verwendet werden können. Selbst bei nicht-ruminierenden Lämmern besteht diese Möglichkeit, wenn auch in geringerer Ausprägung.

1.5. Ausscheidung der Nucleinsäuremetaboliten über den Harn

Bei Schafen bestand zwischen der Ausscheidung von Harnsäure plus Allantoin im Harn und der Nucleinsäurekonzentration im Pansen eine hoch signifikante Beziehung ($r = 0,537$; $p < 0,001$) (TOPPS und ELLIOT, 1965). KAPLAN und POBIRSKII (1974) stellten bei Bullen fest, daß die Ausscheidung von Harnsäure und Allantoin im Harn sowohl von der Nucleinsäurekonzentration im Pansen als auch vom Gehalt an Harnsäure und Allantoin im Plasma abhängig ist. Nach Infusionen von Hefe-RNS in den Labmagen von Schafen, die nach Entleerung des Vormagens intragastral ernährt wurden, konnte eine dosisabhängige Ausscheidung von Allantoin, Hypoxanthin und Guanin im Harn festgestellt werden (GIESECKE et al., 1984). Dabei konnte auch eine enge negative Beziehung zwischen der Purinausscheidung im Harn und der Energiezufuhr der Tiere gesichert werden.

Unter kurzfristiger Hitzebelastung zeigte sich bei Kälbern ein Anstieg des endogenen Anteils an Allantoin im Harn (EL FOULY und KAMAL, 1979).

Beim Rothirsch wurden im Gegensatz zum Schaf erhebliche Mengen der Purine in Form von Hypoxanthin und Xanthin im Harn ausgeschieden (RAZZAQUE et al., 1973). Offensichtlich lassen sich darin Unterschiede im Purinstoffwechsel zwischen Schaf und Rothirsch erkennen.

1.6. Problemstellung

In der Literatur ließen sich verschiedentlich Hinweise darauf finden, daß Beeinflussungen des Energiestoffwechsels auch Auswirkungen auf den Purinstoffwechsel zeigten. So wurden beim Menschen nach körperlicher

Anstrengung in Form von Muskelarbeit erhöhte Konzentrationen von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin im Plasma gemessen (SUTTON et al., 1980; PATTERSON et al., 1982; HARKNESS et al., 1983). Nach kurzfristiger Hitzebelastung zeigte sich bei Kälbern ein Anstieg des endogenen Anteils an Allantoin im Harn (EL FOULY und KAMAL, 1979). ROUBICEK et al. (1970) zeigten an Weiderrindern, daß die Harnsäurekonzentration im Blut durch den Ernährungsstatus beeinflußt werden kann.

Aus den angeführten Literaturhinweisen wurde das Grundkonzept dieser Arbeit abgeleitet. Es stellten sich somit folgende Fragen:

Können Purine bzw. Purinmetaboliten im Plasma als Kriterium für die Beurteilung von Belastungszuständen des Energiestoffwechsels herangezogen werden ?

Hat die Dauer der Belastung (Stunden bzw. Tage) einen Einfluß auf die Purinmetabolitspiegel im Plasma ?

Kommt es unter katabolen Stoffwechselzuständen zum Anstieg von Purinen aus endogenen Quellen ?

Welchen Einfluß übt der Zustrom von Purinen aus dem Gastrointestinal-Trakt auf den Blutspiegel der Purine unter Belastungszuständen aus ?

Welche Beziehungen lassen sich zu den Konzentrationen der Freien Fettsäuren und der Glucose im Plasma herstellen ?

In der vorliegenden Dissertation wurden daher die vier Purinmetaboliten Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin und Allantoin quantitativ im Plasma erfaßt. Dazu wurde die von TIEMEYER und GIESECKE (1982) beschriebene Methode zur Bestimmung von Allantoin mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie so weiterentwickelt, daß

auch niedrige Blutkonzentrationen an Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin, wie sie bei den Zwergziegen anzutreffen waren, bestimmt werden konnten. Durch Verabreichung von Adrenalin und Noradrenalin wurden die Tiere einer kurzfristigen Streßbelastung ausgesetzt. In einem zweiten Versuch wurde durch Futterentzug über 96 Stunden eine Langzeitbelastung des Energiestoffwechsels hervorgerufen, die außerdem am 3. und 4. Tag nach Futterentzug durch Phlorizininjektionen verschärft wurde. Mit der Bestimmung der Glucosekonzentration im Plasma stand zwar ein konventioneller, aber wegen homoeostatischer Regulation wenig empfindlicher Metabolit zur Verfügung. Daher wurde mit der Bestimmung der Freien Fettsäuren (FFS) im Plasma eine Beziehung zu einem Parameter hergestellt, der nach GIESECKE und STANGASSINGER (1982) einen besonders empfindlich auf die Energiestoffwechsellaage reagierenden Metaboliten darstellt. Eine ausführliche Übersicht über die biochemischen sowie metabolischen Eigenschaften der FFS gab GIESECKE (1983).

In der Literatur fanden sich weiterhin zahlreiche Arbeiten, die über Erhöhungen der Konzentration der FFS im Blutplasma nach Futterentzug berichteten (BAIRD et al., 1972; GÜNZEL und GIESECKE, 1974; BLUM et al., 1981; Di MARCO et al., 1981). Nach Injektion von Adrenalin und Noradrenalin konnte ebenfalls ein Anstieg der FFS im Plasma festgestellt werden (RADLOFF und SCHULTZ, 1966; SIDHU und EMERY, 1972; BLUM et al., 1982). AULIE et al. (1971) zeigten außerdem, daß bei Schafen unter Kältestreß die Plasmakonzentration der FFS zunahm.

2. Material und Methoden

2.1. Tiermaterial, Haltung und Fütterung

Für die Untersuchungen wurden kastrierte männliche Zwergziegen im Alter von 2 - 3 Jahren verwendet. Die Tiere hatten ein Körpergewicht von 25 - 33 kg, waren entwurmt (Acidest R, IFFA MERIEUX; Rintal R, Bayer; Citarin R-L, Bayer) und gegen Ektoparasiten behandelt (Alugan R, Hoechst). Während der versuchsfreien Zeit wurden die Tiere in Einzelboxen mit Stroheinstreu gehalten. Die Fütterung bestand aus Heu guter Qualität, das ihnen zweimal täglich ad libitum vorgelegt wurde. Darüber hinaus hatten sie freien Zugang zu Trinkwasser und Salzlecksteinen.

2.2. Durchführung der Versuche

2.2.1. Adrenalin-/Noradrenalin-Versuch

Der Versuchsplan wurde nach dem Schema eines Latein-Quadrates angelegt. Für die Durchführung der jeweiligen Behandlung wurden die Ziegen über eine Zeit von 4 Stunden mit Hilfe eines Kopfhalters festgebunden. Während dieses Zeitraumes hatten die Tiere keine Möglichkeit, Futter bzw. Wasser aufzunehmen.

In einem Vorversuch waren Adrenalin und Noradrenalin getrennt in aequimolarer Dosierung am gleichen Tier bezüglich ihrer Wirkung auf den Blutspiegel von FFS und Glucose getestet worden. Dabei hatte sich gezeigt, daß unter Noradrenalinwirkung ein höherer Anstieg der FFS im Plasma zu verzeichnen war als nach Adrenalingabe. Desweiteren konnten Versuchsergebnisse von RADLOFF und SCHULTZ (1966) an Ziegen, wonach Adrenalin zu einem größeren Anstieg der Glucosekonzentration im Blut führt als Noradrenalin, auch bei Zwergziegen bestätigt werden.

Aus diesen Gründen wurde eine kombinierte Gabe von Adrenalin und Noradrenalin gewählt. Die Dosierung betrug 3,5 µg Adrenalin/kg Körpergewicht (Suprarenin R, Hoechst) und 4,5 µg L-Noradrenalin/kg Körpergewicht (Arterenol R, Hoechst). Die Verabreichung erfolgte in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung über einen in die Vena jugularis externa verlegten Katheter, wobei eine Injektionsgeschwindigkeit von 1 ml pro Minute eingehalten wurde. Die Adrenalingaben wurden mit Beginn des Versuchs viermal hintereinander durchgeführt mit einer Pause von jeweils 10 Minuten zwischen den einzelnen Injektionen. Bei der 3. und 4. Injektion wurde die Dosierung auf 75% der Ausgangsdosis reduziert.

Zur Erfassung des Normalzustandes wurde über einen Zeitraum von 4 Stunden (entspricht 9.00 - 13.00 Uhr) jeweils im Abstand von 1 Stunde Blut entnommen. Für den Zustand unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung wurde dieses Schema um zwei weitere Blutentnahmen bei 35 und 75 Minuten ergänzt.

2.2.2. Hunger-/Phlorizin-Versuch

Während der Versuchsdurchführung wurden die Ziegen jeweils in einem eigenen Stall in Einzelboxen gehalten. Die Stroheinstreu wurde durch Sägespäne ersetzt, um eine Aufnahme von Stroh als Nahrung zu verhindern. Wasser wurde in der gesamten Versuchsperiode ad libitum angeboten.

Die Veränderungen während des Futterentzuges wurden auf normale Fütterungsbedingungen bezogen. Für die Erstellung eines Tagesprofils wurde die Futteraufnahme vereinheitlicht, indem diese zeitlich auf 8.00 - 9.30 Uhr bzw. 17.00 - 18.30 Uhr begrenzt und die aufgenommene Menge gewichtsmäßig erfaßt wurde. Die Entnahme der Blutproben erfolgte von 8.00 - 20.00 Uhr im Abstand von jeweils 3 Stunden.

Für die Dauer des Hungerversuches (96 Stunden) wurde die Fütterung ausgesetzt. Um eine erhöhte renale Glucoseausscheidung und damit eine Verstärkung des katabolen Zustandes zu erreichen, erhielten die Tiere am 3. und 4. Tag jeweils 3 subkutane Injektionen von Phlorizin-dihydrat (Roth, Karlsruhe) im Abstand von 8 Stunden (YOUNG et al., 1974). Die Dosis betrug 10 mg/kg Körpergewicht und Injektion (injektionsfähige Lösung: 1,0 g Phlorizin in 3 ml 1,2 Propandiol). Die Gewinnung der Blutproben erfolgte im Abstand von 12 Stunden.

2.3. Probengewinnung

Vor Versuchsbeginn wurden den Tieren Katheter (Vygon, Aachen) in die Vena jugularis externa gelegt und seitlich am Hals mit Klebeband und peha-Haft^R befestigt. Zur Verhinderung der Blutgerinnung wurde das Lumen der Katheter mit Na-Citrat-Lösung (Fresenius AG, Bad Homburg) belegt. Vor der Gewinnung der Blutproben wurde die Na-Citrat-Lösung abgesaugt und verworfen. Anschließend wurde das Blut in heparinisierte Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) vorsichtig aufgezogen. Die kurzfristige Lagerung der Proben erfolgte unter Kühlung im Eisbad.

Nach dem Zentrifugieren der Blutproben bei 1500 g für 10 Minuten (Laborzentrifuge, Sigma 3 E) wurde das überstehende Plasma abpipettiert. Für die zu untersuchenden Parameter wurde das Plasma in Glasröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht) bzw. 1,5 ml Microtubes (Treff AG, Degersheim, Schweiz) portioniert und anschließend bei -18°C gelagert.

2.4. Bestimmung der Purinmetaboliten

2.4.1. Probenvorbereitung

Die Proben wurden im Wasserbad bei ca. 25°C aufgetaut. Zum Enteiweißen wurden 4 ml Plasma mit 4 ml 1 molarer gekühlter Perchlorsäure (PCA) versetzt und für 10 Sekunden geschüttelt. Anschließend wurden die Proben für 15 Minuten bei 2700 g zentrifugiert und 6 ml des Überstandes abgehoben. Zur Ausfällung der Perchlorationen wurde konzentrierte Kalilauge (200 g/l) bis zum Erreichen eines pH-Wertes von 5 - 6 zugegeben (Überprüfung mit Universalindikatorpapier, pH 1 - 10 (Merk, Darmstadt)). Nach kurzem Schütteln (10 Sekunden) wurden die Proben für 15 Minuten ins Eisbad gestellt und anschließend 15 Minuten lang bei 2700 g zentrifugiert. Vom Überstand wurden 6 ml in Glaszentrifugenröhrchen übergeführt und zur weiteren Eliminierung von Proteinen und Lipiden mit 6 ml Chloroform für 5 Minuten geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren bei 1500 g für 15 Minuten wurden 5 ml des Überstandes in Glaszentrifugenröhrchen (Duran R, Schott, Mainz) pipettiert, diese mit perforiertem Parafilm verschlossen und zum Schutz gegen Licht mit Alufolie umwickelt.

Der verbliebene Rest des Überstandes wurde in 1,5 ml Microtubes (Treff AG, Degersheim, Schweiz) übergeführt und sofort anschließend zur Allantoin-Bestimmung verwendet.

Die in den Zentrifugenröhrchen bereitgestellte Probe wurde für mindestens 4 Stunden tiefgefroren und anschließend unverzüglich in den Lyophilisator gebracht. Nach einer Verweildauer von 48 Stunden im Gefrier-trockner waren die Proben lyophilisiert und wurden bis zur Analyse von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin im Exsikkator gelagert.

2.4.2. Bestimmung von Allantoin im Plasma

Die quantitative Bestimmung der Allantoinproben erfolgte mit Hilfe der Umkehrphasen-Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC). Das HPLC-System bestand aus einer Pumpe, Modell 6000 A, einem Einspritzsystem, Modell U 6-K, und einem UV-Detektor mit variabler Wellenlänge, Modell 450 (alle von Waters Associates, Königstein/Ts.). Zeitweise mußte die Pumpe durch ein anderes Modell, BIP-1 (JASCO, Japan) bzw. das Einspritzsystem durch einen Injektor mit 20 µl Schleife, Modell 7125 (Rheodyne Inc.; USA), ersetzt werden.

Die Säule war zusammengesetzt aus zwei Einzelsäulen mit einer Länge von jeweils 25 cm und einem Durchmesser von 4,6 mm, die durch ein totraumvolumenarmes Kupplungsstück verbunden waren. Das Füllmaterial bestand aus dem Umkehrphasenmaterial Spherisorb ODS-2, 5 µm (M.Crom, Ammerbuch).

Als Elutionsmittel diente eine 0,001 molare Ammoniumdihydrogenphosphat-Lösung ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), die jeden Tag frisch aus einer 1 molaren $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Stammlösung unter Verdünnung mit ultrafiltriertem Wasser (Millipore S.A., Molsheim, Frankreich) hergestellt wurde. Nach dem Einstellen des pH-Wertes auf 2,60 (pH-Meter, Beckmann, München) wurde das Elutionsmittel durch ein Membranfilter mit 0,45 µm Porengröße (Millipore S.A., Molsheim, Frankreich) filtriert und anschließend für 10 bis 15 Minuten im Unterdruck entgast.

Die Probe wurde mit einer 25 µl HPLC-Spritze (Hamilton, Bonaduz, Schweiz) in das Einspritzsystem gegeben. Das injizierte Volumen betrug 20 µl. Zwischen den einzelnen Proben wurde die Spritze durch ca. 20-maliges Aufziehen von ultrafiltriertem Wasser gereinigt.

Abbildung 2: Chromatogramm von enteiweißtem Zwergzeigenglasma
zur Allantoinbestimmung



Die Flußrate des Elutionsmittels betrug 0,8 ml/min.. Die Bestimmung von Allantoin erfolgte über die Messung der UV-Absorption im Bereich von 206 nm (TIEMEYER und GIESECKE, 1982; modifiziert nach SCHREIBER, 1984). An den Detektor war ein Integrator, Modell 3380 A (Hewlett Packard, Frankfurt a.M.), angeschlossen, der die Signale bei einem Papiervorschub von 1,0 cm/min. aufzeichnete (vgl. Abbildung 2). Durch die Verwendung des UV-Detektors mit variabler Wellenlänge war ein erhöhtes Grundrauschen bedingt, das jedoch im Hinblick auf die Höhe des Allantoinpeaks in Kauf genommen werden konnte.

Nach der Messung und Aufzeichnung des Allantoin-Peaks auf dem Integrator wurde das Elutionsmittel für 5 Minuten auf Methanol umgestellt, und die Flußrate für den Rest der Analysendauer auf 1,2 ml/min. erhöht. Dadurch wurde ein beschleunigtes Ablösen der noch auf der Säule gebundenen Substanzen und somit eine kürzere Analysenzeit (ca. 30 Minuten) erreicht.

2.4.3. Bestimmung von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin im Plasma

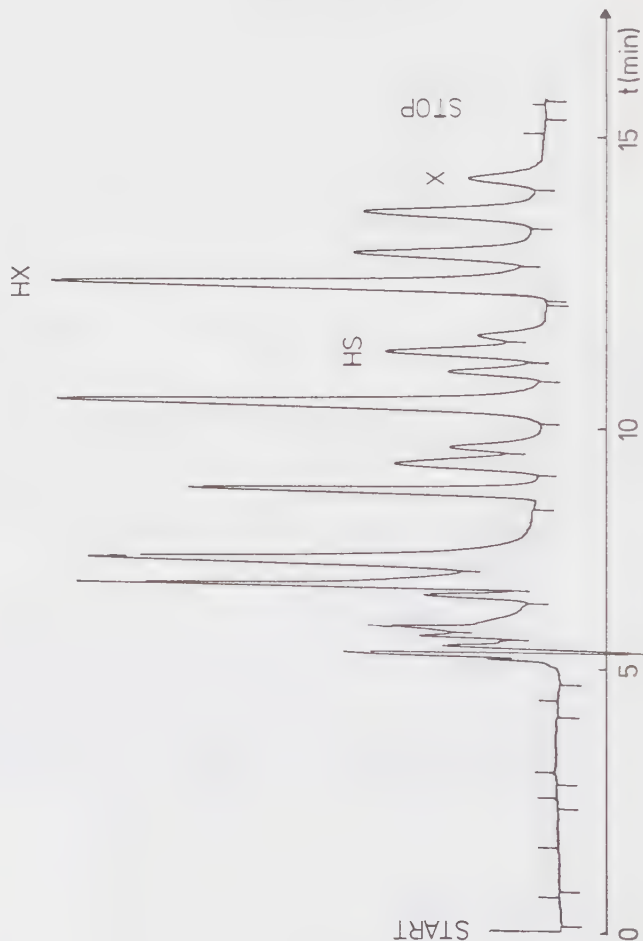
Die Bestimmung erfolgte ebenfalls mit Hilfe der Umkehrphasen-Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie. Durch die Wahl der Bedingungen war es möglich, Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin in einem einzigen Analysengang zu bestimmen.

Das HPLC-System wurde gegenüber der Allantoin-Bestimmung derart geändert, daß an Stelle des UV-Detektors mit variabler Wellenlänge jetzt ein UV-Detektor mit einer festen Wellenlänge von 254 nm, Modell 440, (von Waters Associates, Königstein /Ts.) verwendet wurde.

Abbildung 3: Chromatogramm von enteiweißtem Zwergzeiegenplasma nach 5-facher Konzentrierung zur Bestimmung von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin

Säule: Spherisorb ODS-2,
 5 μm , (250x4,6 mm)
 Elutionsmittel:
 0,1 mol/l $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
 5 % Methanol
 pH 3,55
 Flußrate: 1,0 ml/min.
 Wellenlänge: 254 nm
 Einspritzvolumen: 20 μl
 Papiervorschub: 1 cm/min.
 Abschwächung: 16

HS = Harnsäure
 HX = Hypoxanthin
 X = Xanthin



Das Elutionsmittel bestand aus einer 0,1 molaren wäßrigen $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ -Lösung mit einem Methanol-Anteil von 5 Vol.-% und einem pH-Wert von 3,35. Die um den Faktor 100 gegenüber der Allantoin-Bestimmung erhöhte Molarität des Puffers wurde gewählt, um eine bessere Auftrennung der Peaks zu erreichen. Bei der Zugabe von Methanol erwies sich ein Anteil von 5 Vol.-% als optimal, weil sich dadurch die Retentionszeiten verkürzen ließen und trotzdem eine ausreichende Trennung der Peaks vorhanden war. Der pH-Wert wurde mit 3,35 so eingestellt, daß die zu analysierenden Substanzen gut abgetrennt im Chromatogramm erschienen. Dabei war zu beachten, daß sich die Retentionszeit der Harnsäure durch eine Erniedrigung des pH-Wertes verlängerte bzw. durch eine Erhöhung des pH-Wertes verkürzte. Hypoxanthin und Xanthin wurden durch eine Änderung des pH-Wertes nicht beeinflußt. Die Herstellung des Elutionsmittels entsprach im übrigen der Beschreibung in 2.4.2..

Die Proben wurden kurz vor der Analyse aus dem Exsikator entnommen und jeweils in 1 ml ultrafiltriertem Wasser gelöst, was einer Konzentrierung um das Fünffache entsprach. Zur Analyse wurden 20 µl der Probe mit einer 25 µl HPLC-Spritze (Hamilton; Bonaduz, Schweiz) in das Einspritzsystem injiziert. Die Flußrate betrug 1,0 ml/min..

Die Aufzeichnung der Peaks erfolgte wiederum über einen Integrator, Modell 3380 A (Hewlett Packard, Frankfurt a.M.), bei einem Papiervorschub von 1,0 cm/min. (vgl. Abbildung 3).

Die Retentionszeiten von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin lagen zwischen 10 und 15 Minuten. Durch verschiedene andere Substanzen in der Probe mit längeren

Retentionszeiten ergaben sich Analysenzeiten bis zu 90 Minuten. Deshalb wurde ein zweites Elutionsmittel, das sich von ersterem nur durch einen erhöhten Methanolgehalt von 30 Vol.-% unterschied, so auf die Säule gebracht, daß es, nachdem die Peaks von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin aufgezeichnet waren, zu einer starken Verkürzung der Retentionszeiten und somit zu einer schnelleren Beruhigung der Grundlinie kam. Die Analysendauer ließ sich dadurch auf 30 Minuten reduzieren.

2.4.4. Auswertung

Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte von Hand nach der Dreiecksmethode (SCHWEDT, 1979), da diese zuverlässiger war als die maschinelle Auswertung. Die Fläche des in den Peak einzuzeichnenden Dreiecks ergab sich aus der Höhe multipliziert mit der Halbwertsbreite. Die Berechnung der Konzentration erfolgte über den Flächenvergleich zwischen Probe und Standardlösungen. Letztere wurden durch Lösen von Harnsäure und Allantoin (beide von Serva Feinbiochemica, Heidelberg) bzw. Hypoxanthin und Xanthin (beide von Sigma, St. Louis, USA) in ultrafiltriertem Wasser hergestellt.

Der Allantoin-Standard wies eine Konzentration von ca. 60 - 70 $\mu\text{mol/l}$ auf und wurde nur am Tag der Herstellung verwendet, da bei einer Lagerung im Kühlschrank bzw. im Gefrierfach bereits nach einem Tag deutliche Konzentrationsverluste festzustellen waren.

Für Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin wurde ein Standardgemisch im Bereich von jeweils ca. 20 $\mu\text{mol/l}$ vorbereitet. Eine Lagerung bei -18°C ergab für den Harnsäure-Standard bereits nach wenigen Tagen einen deutlichen Konzentrationsabfall, während Hypoxanthin und Xanthin unverändert blieben.

Bei einer Aufbewahrung im Kühlschrank, d. h. kühl und dunkel, zeigte das Standardgemisch für Hypoxanthin und Xanthin im Verlaufe einer Woche keinerlei Konzentrationsverluste; dagegen nahm der Gehalt an Harnsäure bereits nach zwei Tagen geringfügig ab. Aus diesen Gründen wurde das Standardgemisch alle 2 Tage frisch angesetzt und im Kühlschrank aufbewahrt.

Für die Berechnung des Plasmagehalts von Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin und Allantoin mußten unter anderem zwei Schritte berücksichtigt werden:

Durch das Enteiweißen des Plasmas kam es zu einer Volumenkontraktion der wäßrigen Phase und dadurch zu einer Erhöhung der Konzentration der gelösten Stoffe. Dies wurde bei der Berechnung berücksichtigt, indem nach der PCA-Fällung der überstehende Flüssigkeitsanteil abgemessen und sein Verhältnis zum Gesamtvolumen errechnet wurde. Für die Gesamtheit der Proben ergab sich folgender Faktor: $\bar{x} = 0,8383$; $s = 0,0125$; Variationskoeffizient = 1,49; $n = 257$.

Als zweites mußte die Verdünnung des Plasmas bei der Zugabe von KOH in die Berechnung eingehen. Dazu wurde die zugegebene Menge KOH volumenmäßig erfaßt und daraus der Faktor errechnet: $\bar{x} = 1,1487$; $s = 0,0041$; Variationskoeffizient = 0,36; $n = 256$.

2.4.5. Überprüfung der methodischen Bedingungen

Zur Bestimmung der Präzision des HPLC-Systems wurden Standardlösungen von Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin und Allantoin mehrmals gemessen und der Variationskoeffizient errechnet. Die dabei erhaltenen Fehlerquoten lagen zwischen 1,5 % und 2,2 % (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1:

Fehlerquoten mit Standardlösungen

	HS	HX	X	A
Standard-Konzentration ($\mu\text{mol/l}$)	20,0	24,9	23,3	70,7
Anzahl d. Bestimmungen	11	11	11	13
Präzision *	1,6%	2,2%	1,5%	1,7%

* = Variationskoeffizient

HS = Harnsäure; HX = Hypoxanthin;

X = Xanthin; A = Allantoin;

Für die Ermittlung der Wiederfindung wurden in mehreren Parallelansätzen 4 ml frisch gewonnenes Plasma von Zwergziegen mit 400 μl Standardlösung versetzt, davon 4 ml eingefroren, aufgetaut, der üblichen Vorbereitung unterzogen und anschließend sofort analysiert. Dabei wurden für die einzelnen Substanzen Wiederfindungsraten zwischen 81,9 % und 92,1 % erzielt (vgl. Tabelle 2). Daraus wurde jeweils ein Berechnungsfaktor zur Ermittlung der absoluten Konzentrationen im Plasma abgeleitet. Bei Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin wurde dazu der niedrigere Konzentrationsbereich herangezogen, da er in etwa dem Vorkommen der einzelnen Purinmetaboliten in den Proben entsprach.

Tabelle 2:

Wiederfindungsraten im Plasma von Zwergziegen

	zugesetzte Menge ($\mu\text{mol/l}$)	n	Wieder- findung in %	Präzision in % *	Berech- nungs- faktor
Harn- säure	5,78	8	92,13	5,52	-
	2,96	7	84,53	4,43	1,18
Hypo- xanthin	6,93	8	84,33	3,01	-
	3,55	7	81,90	4,58	1,22
Xanthin	6,38	8	85,74	3,62	-
	3,28	7	85,96	1,76	1,16
Allan- toin	60,50	7	87,40	4,20	1,14

* = Variationskoeffizient

2.5. Bestimmung der Freien Fettsäuren (FFS)

Die Bestimmung der FFS erfolgte nach Extraktion mit Hilfe eines Gemisches aus Isopropanol, n-Heptan und 1 N H_2SO_4 (40 : 10 : 1; v/v) (DOLE, 1956). Der weitere Analysengang entsprach weitgehend der bei ANNISON (1960) beschriebenen Methode: Nach zweimaligem Ausschütteln der FFS in n-Heptan wurde der Extrakt im Vakuum bei 60°C eingedampft. Der Trockenrückstand wurde

in Äthanol wieder aufgenommen und mit einer 0,05 %igen äthanolischen Nilblauschlordilösung (BRAUN, 1971) versetzt. Die Titration der FFS erfolgte mit einer $\sim 0,005$ molaren alkalischen KOH-Lösung unter ständiger Begasung mit N_2 .

Ein dem Plasma zugesetzter Palmitinsäure-Standard ($500 \mu\text{mol/l}$) wurde bei 10 Bestimmungen zu 97,5 % mit einer Standardabweichung von 2,3 % wiedergefunden.

2.6. Bestimmung von Glucose im Plasma

Die Bestimmung der Glucose-Konzentration im Plasma erfolgte mit Hilfe einer Test-Combination (Boehringer, Mannheim) nach der GOD-Perid^R-Methode. Die Präzision der Methode wurde im Konzentrationsbereich von 2,8 - 5,6 mmol/l überprüft, wobei sich Fehlerquoten (= Variationskoeffizient) zwischen 1,2 und 1,4 % ($n = 5$) ergaben.

2.7. Statistische Methoden

Die Ergebnisse werden als Mittelwerte und Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) angegeben. Konzentrationsunterschiede zwischen Stichproben von gleichen Tieren bei unterschiedlicher Behandlung wurden mit Hilfe des WILCOXON-Tests für Paardifferenzen (SACHS, 1984) auf Zufallswahrscheinlichkeit geprüft. Die Berechnung der linearen Regressionen und ihrer Korrelationskoeffizienten sowie der Test auf Ausreißer erfolgten nach den von SACHS (1984) angegebenen Methoden. Die erhaltenen Korrelationskoeffizienten wurden mit Hilfe einer Signifikanz-Tabelle für r (Documenta Geigy, 1968) auf Signifikanz gegen Null geprüft.

3. Ergebnisse

3.1. Adrenalin-/Noradrenalin-Versuch

3.1.1. Purinmetaboliten im Plasma unter Adrenalin-/ Noradrenalin-Wirkung

3.1.1.1. Harnsäure

Die Harnsäurekonzentration im Plasma unter Normalbedingungen sowie nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion ist in Tabelle 3 dargestellt.

Unter Normalbedingungen zeigten sich über den Untersuchungszeitraum von 4 Stunden nur geringe Schwankungen im mittleren Plasmagehalt an Harnsäure. Es war kein signifikanter Verlauf erkennbar.

Nach Injektion von Adrenalin und Noradrenalin war zwar eine Tendenz zu ansteigenden Harnsäuregehalten im Plasma erkennbar, es ließen sich aber keine signifikanten Unterschiede zu den Normalwerten errechnen. Die an den Meßpunkten bei 35, 60 und 75 Minuten auftretende höhere Standardabweichung war vor allem durch die höheren Harnsäurekonzentrationen bei Tier 2 bedingt.

3.1.1.2. Hypoxanthin

Ein Vergleich der Hypoxanthinkonzentration im Plasma nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion mit den Normalwerten ließ keinen signifikanten Unterschied erkennen (vgl. Tabelle 4).

Für den Adrenalin-/Noradrenalin-Zustand ergaben sich bei Tier 2 extrem niedrige Werte. Da diese mit Ausnahme des Null- und 120-Minuten-Wertes nicht als Ausreißer (nach SACHS, 1984) zu bezeichnen waren, gingen alle Werte in die Berechnung der mittleren Hypoxanthin-

Tabelle 3:

Harnsäure im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion

Zeit (min.)	0	35	60	75	120	180	240
	- unter Normalbedingungen -						
$\bar{x}$	3,74	-	3,86	-	3,70	3,72	3,82
s	0,73	-	0,76	-	0,69	1,01	0,67
n	6	-	6	-	5 *	5	5
	- nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion -						
$\bar{x}$	4,01	4,25	4,32	4,85	3,72	3,77	3,90
s	0,63	1,92	1,25	1,78	1,03	0,33	0,62
n	5	6	6	6	6	5	6

* Bei dieser und einem Teil der folgenden Tabellen sind wechselnde Tierzahlen
verzeichnet, da einzelne Tiere als "Ausreißer" statistisch eliminiert wurden.

Tabelle 4:

Hypoxanthin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion

Zeit (min.)	0	35	60	75	120	180	240
	- unter Normalbedingungen -						
$\bar{x}$	3,88	-	3,23	-	3,15	3,05	3,54
s	1,36	-	0,54	-	1,18	1,18	0,77
n	6	-	6	-	6	6	6
	- nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion -						
$\bar{x}$	3,24	2,65	3,71	3,28	2,66	2,89	3,69
s	1,35	1,14	2,09	1,52	1,17	1,21	1,57
n	6	6	6	6	6	6	6

konzentration ein. Dadurch mußte jedoch eine erhebliche Zunahme der Standardabweichung in Kauf genommen werden. Eine Erklärung für diese Extremwerte könnte darin liegen, daß jenes Tier während der Versuchsdurchführung ein äußerst ängstliches Verhalten zeigte.

3.1.1.3. Xanthin

Wie aus Tabelle 5 zu ersehen ist, fanden sich im Plasma von Zwergziegen unter Normalbedingungen relativ geringe Xanthinkonzentrationen. Damit wurden bei einem mittleren Xanthingehalt von $0,70 \mu\text{mol/l}$ nur rund 20 % der Harnsäure- bzw. Hypoxanthinkonzentration erreicht. Betrachtet man die Normalwerte über den Meßzeitraum von 4 Stunden, so ließ sich eine Tendenz zu abnehmenden Xanthinkonzentrationen im Plasma bei fortschreitender Versuchsdauer erkennen.

Der Einfluß der Adrenalin-/Noradrenalin-Behandlung zeigte sich am Meßwert nach 60 Minuten bei 4 Tieren in deutlich erhöhten Xanthinkonzentrationen. Bei Tier 5 betrug der Anstieg gegenüber dem Normalwert 249 % und bei Tier 3, 6 und 7 im Durchschnitt $78 \% \pm 32 \%$. Eine statistische Absicherung war auf Grund der geringen Tierzahl nicht möglich. Unterstützt wurde dieses Ergebnis durch die ebenfalls erhöhten Werte bei 35, 75 und 120 Minuten. Der Vergleich der Mittelwerte läßt bei Xanthin bei ausreichender Tierzahl einen deutlicheren Effekt erwarten als bei Hypoxanthin und Harnsäure.

Tabelle 5:

Xanthin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion

Zeit (min.)	0	35	60	75	120	180	240
	- unter Normalbedingungen -						
$\bar{x}$	0,88	-	0,73	-	0,68	0,59	0,60
s	0,25	-	0,21	-	0,17	0,21	0,11
n	6	-	5	-	5	4	4
	- nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion -						
$\bar{x}$	0,98	1,27	1,75	1,28	1,32	0,98	0,99
s	0,31	0,32	0,50	0,63	0,42	0,32	0,22
n	5	5	5	6	5	6	6

3.1.1.4. Allantoin

Allantoin stellt beim Wiederkäuer das Endprodukt im Purinabbau dar und erreichte dadurch unter Normalbedingungen mit mittleren Werten von $164 \mu\text{mol/l}$ auch die höchste Konzentration der Purinmetaboliten im Plasma (vgl. Tabelle 6). Damit lag die Allantoinkonzentration im Plasma um das ca. 50-fache über der Harnsäure- bzw. Hypoxanthinkonzentration und um das ca. 240-fache über der Xanthinkonzentration.

In Tabelle 6 sind die Allantoinkonzentrationen im Plasma unter Normalbedingungen sowie nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion gegenübergestellt. Alle 6 Ziegen zeigten nach 60 Minuten unter Adrenalinwirkung einen signifikanten Rückgang der Allantoinkonzentration im Plasma ($p < 0,05$, $n = 6$). Bestätigt wurde dies durch ebenfalls niedrige Allantoinkonzentrationen nach 35 und 75 Minuten. Noch nach 120 bzw. 180 Minuten konnten signifikant niedrigere Allantoingehalte im Plasma festgestellt werden ($p < 0,05$, $n = 6$).

3.1.2. Freie Fettsäuren im Plasma unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung.

Bei den Versuchstieren stieg die Plasmakonzentration der FFS bereits nach 35 Minuten signifikant ($p < 0,05$, $n = 6$) gegenüber dem Nullwert an (vgl. Tabelle 7). Der 60-Minuten-Wert war mit $638,4 \mu\text{mol COOH/l}$ signifikant ($p < 0,05$, $n = 6$) gegenüber dem Normalwert von $92,9 \mu\text{mol COOH/l}$ erhöht. Die hohe Standardabweichung von $493,6 \mu\text{mol COOH/l}$ wurde dadurch verursacht, daß die Tiere individuell unterschiedlich stark reagierten. So stiegen bei den Tieren 3, 5, 6 und 7 die FFS um das 2- bis 5-fache gegenüber dem Normalwert an, während bei Tier 1 und 2 eine Zunahme um das 14- bis 16-fache zu verzeichnen war. Nach 75 Minuten fiel die Konzentration der FFS im Plasma bis zum 120-Minuten-Wert wieder

Tabelle 6:

Allantoin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion

Zeit (min.)	0	35	60	75	120	180	240
	- unter Normalbedingungen -						
$\bar{x}$	165,80	-	168,57	-	173,07	157,40	155,14
s	27,92	-	21,05	-	25,75	25,85	23,43
n	6	-	6	-	6	6	6
	- nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion -						
$\bar{x}$	162,26	139,58	131,28*	133,64	145,61*	143,51*	145,23
s	37,62	26,38	25,01	26,19	20,64	26,94	26,78
n	6	6	6	6	6	6	6

* signifikant erniedrigt gegenüber Normalzustand ($p < 0,05$, $n = 6$)

Tabelle 7:

Freie Fettsäuren im Plasma ($\mu\text{mol COOH/l}$) unter Normalbedingungen
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion

Zeit (min.)	0	35	60	75	120	180	240
	- unter Normalbedingungen -						
$\bar{x}$	156,6	-	92,9	-	114,2	200,8	223,9
s	46,3	-	25,0	-	39,5	121,4	56,4
n	5	-	6	-	6	6	6
	- nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion -						
$\bar{x}$	210,7 a	723,4 b	638,4 *	684,6 c	142,4 d	124,2 **	109,3 **
s	186,5	474,6	493,6	506,7	61,0	51,7	28,2
n	6	6	6	6	6	6	6

* signifikant erhöht gegenüber Normalzustand ($p < 0,05$, $n = 6$)

** signifikant erniedrigt gegenüber Normalzustand ($p < 0,05$, $n = 6$)

a : b } $p < 0,05$ ($n = 6$)
c : d }

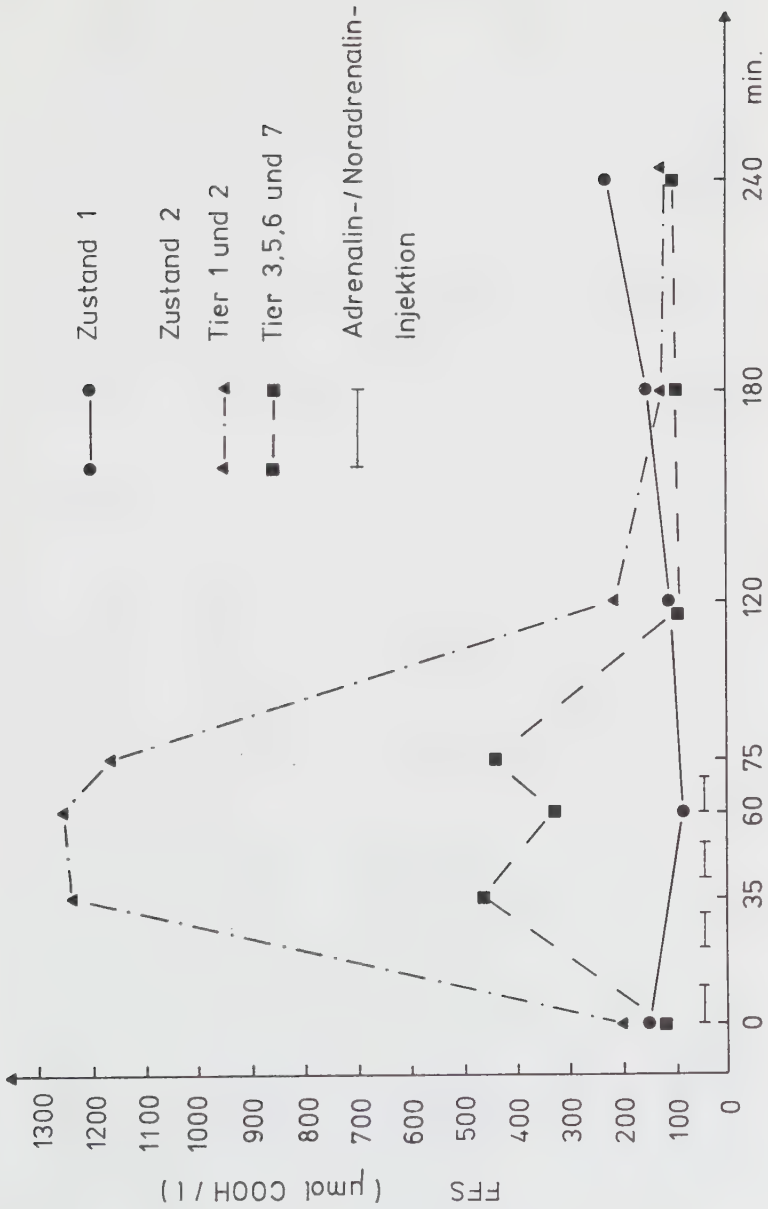


Abbildung 4: Freie Fettsäuren im Plasma unter Normalbedingungen (Zustand 1) sowie nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

signifikant ab ($p < 0,05$, $n = 6$). Nach 180 bzw. 240 Minuten wurden sogar die Normalwerte signifikant unterschritten ($p < 0,05$, $n = 6$). Dieser Unterschied kam v.a. dadurch zustande, daß die Kontrollwerte unter Normalbedingungen mit zunehmender Versuchsdauer teils signifikant anstiegen. Als Ursache dürfte wohl die fehlende Futteraufnahme während des Versuches angesehen werden.

Den Verlauf der Plasmakonzentration der FFS unter Normalbedingungen sowie nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion gibt Abbildung 4 wieder. Bei dieser Darstellung wurden die im Tabellenanhang (Tabelle A 7) als Ausreißer gekennzeichneten Einzelwerte nicht berücksichtigt.

3.1.3. Glucose im Plasma unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung

Unter Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin reagierten alle 6 Zwergziegen mit einem Anstieg der Glucosekonzentration im Plasma (vgl. Tabelle 8). Der 60-Minuten-Wert stieg signifikant ($p < 0,05$, $n = 6$) gegenüber dem Normalwert an. Auch nach 120 bzw. 180 Minuten war die Glucosekonzentration im Plasma noch signifikant gegenüber dem Normalwert erhöht ($p < 0,05$, $n = 6$). Die unter Katecholaminwirkung erhöhte Standardabweichung war durch Extremwerte bei Tier 2 bedingt. So stieg die Glucosekonzentration im Plasma z.B. nach 60 Minuten bei Tier 2 um 239 % gegenüber dem Normalwert an, bei den restlichen Tieren (1,3,5,6,7) jedoch nur im Mittel um $118 \% \pm 25 \%$. Eine graphische Darstellung der Glucosekonzentrationen im Plasma unter Ausklammerung der Extremwerte von Tier 2 zeigt Abbildung 5. Dabei wurde ebenfalls deutlich, daß sich die erhöhten Glucosewerte deutlich langsamer normalisierten als die FFS-Werte in Abbildung 4.

Tabelle 8:

Glucose im Plasma (mmol/l) unter Normalbedingungen
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion

Zeit (min.)	0	35	60	75	120	180	240
	- unter Normalbedingungen -						
$\bar{x}$	3,28	-	3,26	-	3,50	3,65	3,59
s	0,41	-	0,33	-	0,26	0,80	0,72
n	6	-	6	-	6	6	6
	- nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion -						
$\bar{x}$	3,44 a	7,78 b	7,82 c*	8,48 d	7,06 e*	5,15 f*	3,83 g
s	0,49	2,07	2,25	2,14	2,30	1,06	0,85
n	6	6	6	6	6	6	6

* signifikant erhöht gegenüber Normalzustand ($p < 0,05$, $n = 6$)

a : b	}	e : f	}
c : d		f : g	
d : e			

$p < 0,05$ ($n = 6$) $p < 0,05$ ($n = 6$)

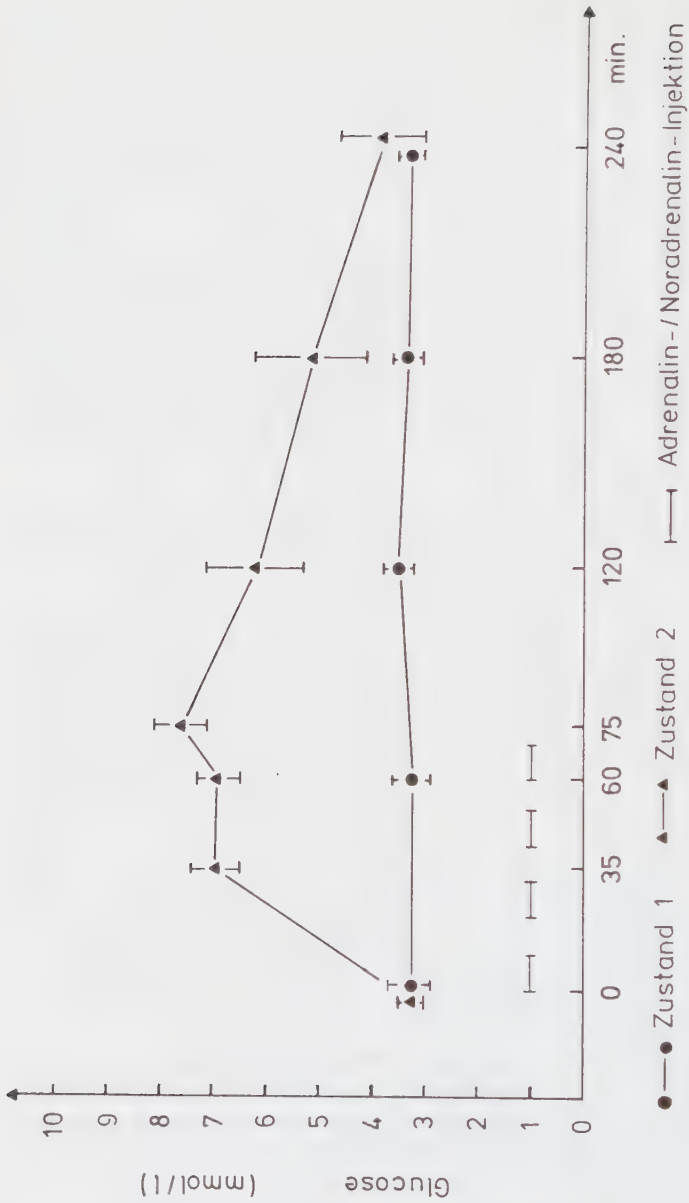


Abbildung 5: Glucose im Plasma ($\bar{x} \pm s$) unter Normalbedingungen (Zustand 1) sowie nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

3.1.4. Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung

Eine Übersicht über die Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion gibt Tabelle 9 wieder. Allantoin wies nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion jeweils zu Harnsäure, FFS sowie Glucose eine negative Korrelation auf, während für Harnsäure sowie Xanthin z.T. gegensätzliche Beziehungen feststellbar waren. Auffallend war die enge positive Beziehung ($r = 0,743$; $p < 0,001$) zwischen FFS und Harnsäure. Glucose und FFS zeigten unter der Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin eine positive Korrelation.

Tabelle 9:

Korrelationen der untersuchten Parameter nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion

	r	p	n
Harnsäure/Allantoin	- 0,506	< 0,001	40
FFS/Harnsäure	+ 0,743	< 0,001	39
FFS/Allantoin	- 0,382	< 0,05	40
Glucose/FFS	+ 0,516	< 0,01	36
Glucose/Xanthin	+ 0,420	< 0,01	37
Glucose/Allantoin	- 0,453	< 0,01	37

3.2. Purinmetaboliten, Freie Fettsäuren und Glucose im Plasma unter Normalbedingungen (Tagesprofil)

Vor der Durchführung des Fastenversuches wurde bei 7 Zwergziegen ein Tagesprofil der zu untersuchenden Parameter erstellt. Dafür wurde den Tieren von 8.00 - 20.00 Uhr im Abstand von jeweils 3 Stunden Blut entnommen. Die Futteraufnahme wurde vereinheitlicht, indem diese zeitlich auf 8.00 - 9.30 Uhr bzw. 17.00 - 18.30 Uhr begrenzt wurde.

Der Tagesverlauf der untersuchten Purinmetaboliten ist in Tabelle 10 wiedergegeben. Für die Parameter Harnsäure und Hypoxanthin konnten keinerlei signifikante Veränderungen in Abhängigkeit von Tageszeit und Fütterung festgestellt werden. Die Xanthinkonzentration im Plasma dagegen zeigte eine deutliche Tendenz zu höheren Werten nach der Futteraufnahme. In der fütterungsfreien Zeit von 11.00 bis 17.00 Uhr nahm die Xanthinkonzentration signifikant ab ($p < 0,05$, $n = 6$). Der Verlauf der Allantoinkonzentration im Plasma entsprach in etwa dem der Xanthinkonzentration. Nach der Futteraufnahme stieg der Allantoingehalt im Plasma an. Von 11.00 - 17.00 Uhr dagegen nahm die Allantoinkonzentration im Plasma wieder signifikant ab ($p < 0,05$, $n = 7$).

Die Angaben zum tageszeitlichen Verlauf der FFS und der Glucosekonzentration im Plasma sind aus Tabelle 11 zu entnehmen. Die Werte entsprechen weitgehend dem bekannten Bild.

Tabelle 10:

Purine im Plasma unter Normalbedingungen (Tagesprofil)

- Tageszeit -						
	8.00	*	11.00	14.00	17.00	* 20.00 Uhr
Harnsäure (μmol/l)						
$\bar{x}$	3,12		2,85	2,98	2,95	2,93
s	0,74		0,49	0,50	0,54	0,45
n	6		7	6	7	6
Hypoxanthin (μmol/l)						
$\bar{x}$	3,40		3,23	3,43	3,05	3,25
s	1,24		0,80	1,00	0,77	0,88
n	6		7	6	7	6
Xanthin (μmol/l)						
$\bar{x}$	0,51		0,55 ^a	0,50	0,43 ^b	0,47
s	0,17		0,11	0,20	0,11	0,12
n	6		6	5	6	5
b signifikant kleiner als a ($p < 0,05$, $n = 6$)						
Allantoin (μmol/l)						
$\bar{x}$	145,91		154,20 ^a	143,65	134,68 ^b	143,21
s	42,86		37,62	30,52	29,09	24,39
n	7		7	7	7	7
b signifikant kleiner als a ($p < 0,05$, $n = 7$)						

* Fütterung von 8.00 - 9.30 Uhr bzw.
von 17.00 - 18.30 Uhr

Tabelle 11:

Freie Fettsäuren und Glucose im Plasma unter
Normalbedingungen (Tagesprofil)

- Tageszeit -					
	8.00	*	11.00	14.00	17.00 * 20.00 Uhr
FFS ($\mu\text{mol COOH/l}$)					
$\bar{x}$	264,0		226,5	206,4	215,8 ^a 113,4 ^b
s	234,5		114,8	89,4	77,3 66,2
n	6		7	7	7 7

b signifikant kleiner als a ($p < 0,05$, $n = 7$)

Glucose (mmol/l)					
$\bar{x}$	3,39		3,33 ^a	3,93 ^b	3,67 3,91
s	0,38		0,26	0,20	0,31 0,42
n	7		7	7	7 7

b signifikant größer als a ($p < 0,05$, $n = 7$)

* Fütterung von 8.00 - 9.30 Uhr bzw.
von 17.00 - 18.30 Uhr

3.3. Hunger-/Phlorizin-Versuch

3.3.1. Purinmetaboliten im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

3.3.1.1. Harnsäure

Die Harnsäurekonzentration im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes gibt Tabelle 12 wieder. Mit Beginn des Versuches zeigte sich bis zum 48-Stunden-Wert eine Tendenz zu abnehmenden Harnsäurewerten im Plasma. Dies ließ sich besonders deutlich zeigen, wenn der Tagesmittelwert unter Normalbedingungen (vgl. Tabelle A 10) als Vergleichswert herangezogen wurde. Danach stieg mit dem Einsetzen der Phlorizin-Behandlung (vgl. 2.2.2.) die Harnsäurekonzentration bis zum 60-Stunden-Wert von 2,53 $\mu\text{mol/l}$ auf 3,10 $\mu\text{mol/l}$ signifikant an ($p < 0,05$, $n = 6$). In der Folge war die Harnsäurekonzentration bis 84 Stunden nach Futterentzug signifikant gegenüber dem 48-Stunden-Wert erhöht.

3.3.1.2. Hypoxanthin

Bei Futterentzug nahm die Hypoxanthinkonzentration im Plasma bis zum 36-Stunden-Wert geringfügig ab. Mit zunehmender Dauer des Futterentzuges stieg der Hypoxanthingehalt im Plasma wieder an und war sowohl nach 48 Stunden als auch nach 60 Stunden signifikant gegenüber dem vorhergehenden Wert erhöht (vgl. Tabelle 13). Der 60-Stunden-Wert war mit 4,81 $\mu\text{mol/l}$ signifikant höher als der Nullwert mit 3,74 $\mu\text{mol/l}$. Nach 72 bzw. 96 Stunden Futterentzug war die Hypoxanthinkonzentration im Plasma jeweils signifikant gegenüber dem Tagesmittelwert unter Normalbedingungen (vgl. Tabelle A 10) erhöht ($p < 0,01$, $n = 7$).

Tabelle 12:

Harnsäure im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

	0	12	24	36	48	*	60	72	84	96
	- Zeit nach Futterentzug in (h) -									
$\bar{x}$	2,70	2,59	2,73	2,56	2,53a		3,10b	3,25c	3,11d	3,16
s	0,55	0,54	0,83	0,89	0,67		1,11	1,09	1,12	1,10
n	7	7	7	7	6		7	7	7	7

* Beginn der Phlorizin-Gaben (vgl. 2.2.2.)

$$\left. \begin{array}{l} a : b \\ a : c \\ a : d \end{array} \right\} p < 0,05, n = 6$$

Tabelle 13:

Hypoxanthin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

- Zeit nach Futterentzug in (h) -											
	0	12	24	36	48	*	60	72	84	96	
$\bar{x}$	3,74a	3,31	3,37	3,17b	3,55c		4,81d	4,37e	4,15		4,19f
s	1,20	0,75	0,65	0,63	0,80		1,51	0,95	1,46		0,68
n	7	7	7	7	7		7	7	7		7

* Beginn der Phlorizin-Gaben

$b : c \rightarrow p < 0,05$
 $c : d \rightarrow p < 0,01$
 $a : d$
 $c : e$
 $c : f$

$p < 0,05$

3.3.1.3. Xanthin

Die Xanthinkonzentration im Plasma war über die gesamte Versuchsdauer keinen großen Änderungen unterworfen. Nach 48 bzw. 60 Stunden Futterentzug stieg die Plasmakonzentration des Xanthins geringfügig, aber signifikant ($p < 0,05$, $n = 7$) gegenüber dem jeweils vorausgehenden Wert an (vgl. Tabelle 14). Der 60-Stunden-Wert war mit $0,78 \mu\text{mol/l}$ signifikant gegenüber dem Nullwert ($0,60 \mu\text{mol/l}$) erhöht ($p < 0,05$, $n = 6$). In der Folge zeigte die Xanthinkonzentration im Plasma 72, 84 und 96 Stunden nach Futterentzug jeweils eine signifikante Erhöhung gegenüber dem Tagesmittelwert unter Normalbedingungen ($p < 0,05$, $n = 6$) (vgl. Tabelle A 10).

3.3.1.4. Allantoin

Die Allantoinkonzentrationen im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes sind in Tabelle 15 wiedergegeben. Abgesehen von einem kurzen Anstieg nach 12 Stunden, nahm der Allantoingehalt im Plasma mit zunehmender Versuchsdauer signifikant ab. Bereits 24 Stunden nach Beginn des Hungerzustandes war die Allantoinkonzentration im Plasma mit $p < 0,01$ ($n = 7$) gegenüber dem Tagesmittelwert unter Normalbedingungen (vgl. Tabelle A 10) erniedrigt. Nach 84 Stunden wurde mit $51,19 \mu\text{mol/l}$ die niedrigste Allantoinkonzentration im Plasma gemessen. Dies entsprach einer Abnahme von 64 Prozent gegenüber dem Tagesmittelwert unter Normalbedingungen (vgl. Tabelle 10). Weitere Ergebnisse der statistischen Auswertung sind der Tabelle 15 zu entnehmen.

Tabelle 14:

Xanthin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

		- Zeit nach Futterentzug in (h) -									
		0	12	24	36	48	*	60	72	84	96
$\bar{x}$		0,60 ^a	0,58	0,66	0,59	0,66 ^b		0,78 ^c	0,74	0,71	0,75 ^d
s		0,15	0,11	0,18	0,10	0,16		0,29	0,26	0,25	0,21
n		6	6	7	7	7		7	7	7	7

* Beginn der Phlorizin-Gaben

b : c → $p < 0,05$, n = 7

a : c → $p < 0,05$, n = 6

a : d → $p < 0,05$, n = 6

Tabelle 15:

Allantoin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

- Zeit nach Futterentzug in (h) -											
	0	12	24	36	48	*	60	72	84	96	
$\bar{x}$	135,67a	154,33b	104,23c	91,25d	75,99e		65,30f	57,40g	51,19h	54,41	
s	14,85	21,38	18,90	5,18	6,08		8,07	7,80	10,91	6,97	
n	6	6	7	6	7		7	7	7	7	

* Beginn der Phlorizin-Gaben

c Von 24 bis 96 Stunden alle Werte signifikant kleiner als a ($p < 0,05$, $n = 6$)

b : c	] -	e : f	→	p < 0,01 (n = 7)
c : d		f : g	}	p < 0,05 (n = 7)
d : e		g : h		

Der Verlauf der Allantoinkonzentration im Plasma in Abhängigkeit von der Dauer des Futterentzuges ist in Abbildung 6 dargestellt. Legte man der Allantoinabnahme im Plasma von 12 bis 84 Stunden nach Futterentzug eine Exponentialfunktion zugrunde, so ließ sich diese durch logarithmische Transformation der y-Werte (nach SACHS, 1984) in eine lineare Funktion umwandeln (vgl. Abbildung 7). Diese wurde durch folgende Geradengleichung charakterisiert:

$$\log y = 2,198 - 0,006 x$$

Der Korrelationskoeffizient der Regressionsgeraden ($r = -0,912$, $n = 7$) war mit $p < 0,001$ signifikant gegen Null.

$$k = \frac{1}{\Delta t} \cdot 2,303 \cdot (\Delta \log y)$$

$$T/2 = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,693}{k}$$

Nach oben angeführten Gleichungen ließ sich die Halbwertszeit für die Allantoinabnahme im Plasma errechnen. Für den Zeitraum von 12 bis 48 Stunden nach Futterentzug betrug sie 36 ± 7 Stunden, bzw. 51 ± 6 Stunden für die Zeit von 48 bis 84 Stunden nach Versuchsbeginn.

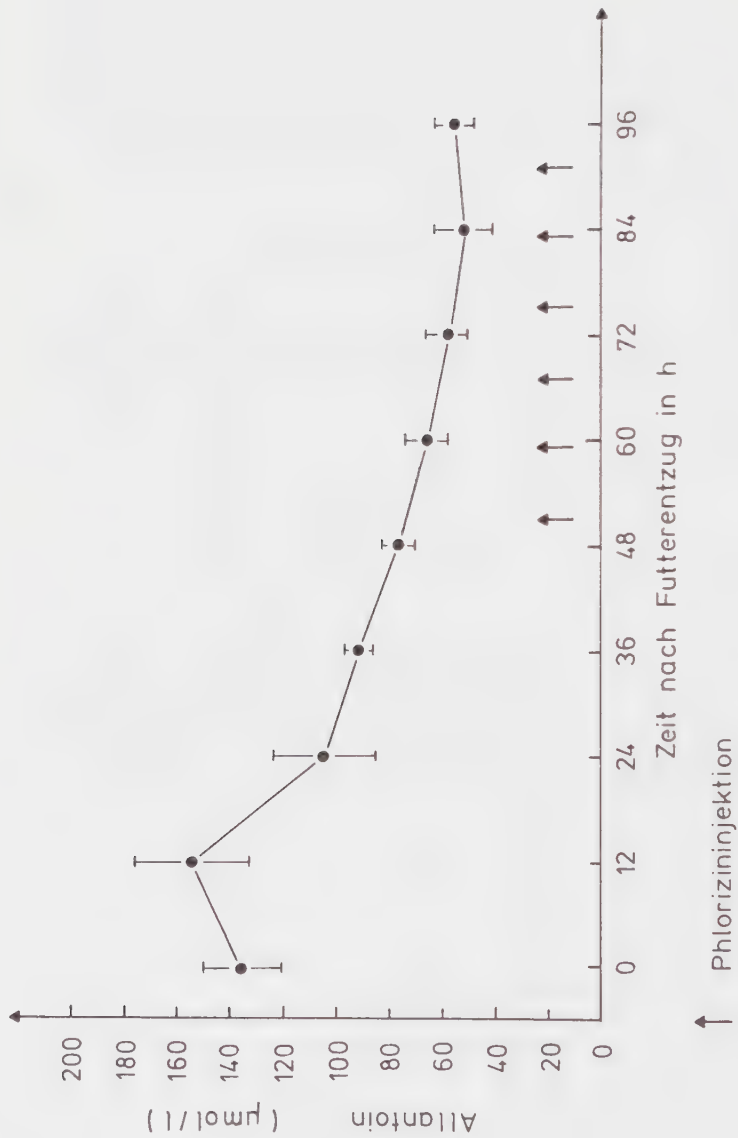


Abbildung 6: Allantoin im Plasma ($\bar{x} \pm s$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

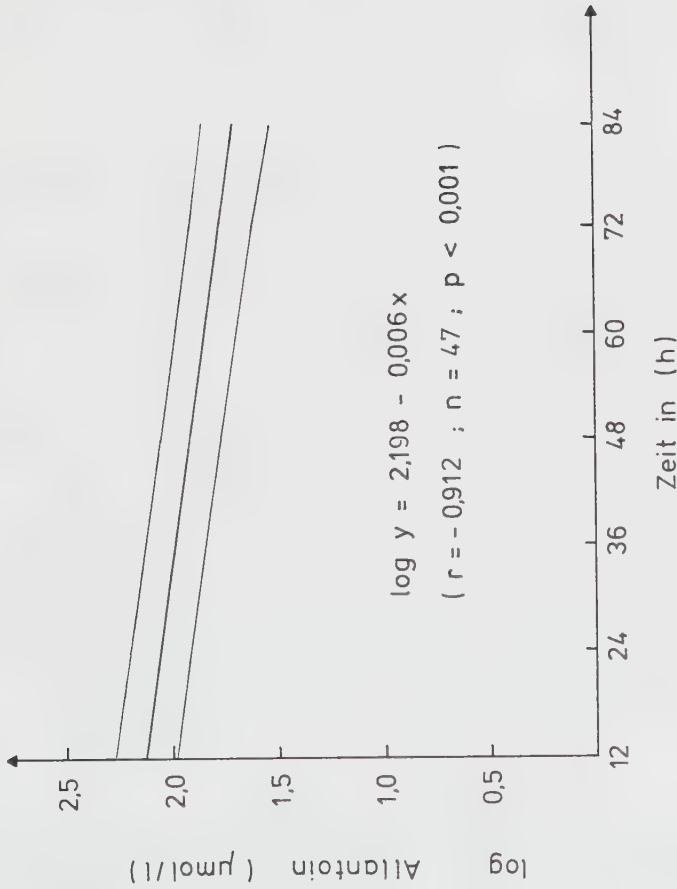


Abbildung 7: Logarithmisch transformierte Allantoinkonzentration im Plasma in Abhängigkeit von der Zeit nach Futterentzug (eingezeichnet ist der 95 % Vertrauensbereich)

3.3.2. Freie Fettsäuren im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

Nach Futterentzug stieg die Konzentration der FFS im Plasma an (vgl. Tabelle 16). Für den reinen Hungerzustand (bis 48 Stunden nach Versuchsbeginn) ergab sich für die Konzentrationszunahme der FFS im Plasma (y) in Abhängigkeit von der Dauer des Futterentzuges (x) folgende lineare Beziehung (vgl. Abbildung 9):

$$y = 13,34 x + 104,04$$

Der Korrelationskoeffizient der Regressionsgeraden ($r = 0,8671$, $n = 35$) war mit $p < 0,001$ signifikant gegen Null. Für die ersten 48 Stunden konnte daraus eine mittlere Zunahme der Konzentration der FFS im Plasma von $13,3 \mu\text{mol COOH/l}$ pro Stunde bzw. $159,6 \mu\text{mol COOH/l}$ pro 12 Stunden errechnet werden.

Nach 48 Stunden kam es unter Phlorizin-Wirkung zu einer Verschärfung des katabolen Zustandes. Die FFS im Plasma stiegen vermehrt an und erreichten nach 84 Stunden ihren höchsten Punkt. Der Verlauf der FFS im Plasma in Abhängigkeit von der Dauer des Futterentzuges ist in Abbildung 8 dargestellt. Über den Zeitraum 48 bis 84 Stunden nach Futterentzug ließ sich für die Auftragung der Konzentration der FFS im Plasma (y) gegen die Dauer des Futterentzuges (x) durch lineare Regression folgende Geradengleichung berechnen (vgl. Abbildung 9):

$$y = 23,92 x - 331,01$$

Diese Beziehung konnte mit $p < 0,001$ gesichert werden ($r = 0,7199$, $n = 28$). Wie aus Abbildung 9 zu ersehen ist, kam es unter Phlorizin-Wirkung zu einer deutlichen Erweiterung des Vertrauensbereiches gegenüber dem reinen Hungerzustand. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß durch die zusätzliche Behandlung weitere

Tabelle 16:

Freie Fettsäuren im Plasma ($\mu\text{mol COOH/l}$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

		- Zeit nach Futterentzug in (h) -							
		0	12	24	36	48 *	60	72	84 96
$\bar{x}$	116,1a		220,7b	470,1c	574,8d	739,6e	1216,8f	1397,7	1636,0g 1574,7
s	44,3		114,0	127,5	95,7	230,9	250,8	518,8	193,0 383,6
n	7		7	7	7	7	7	7	7 7

* Beginn der Phlorizin-Gaben

c Von 24 bis 96 Stunden alle Werte signifikant höher als a ($p < 0,01$, $n = 7$)

b : c	a : b	
e : f	c : d	p < 0,05 (n = 7)
f : g	d : e	

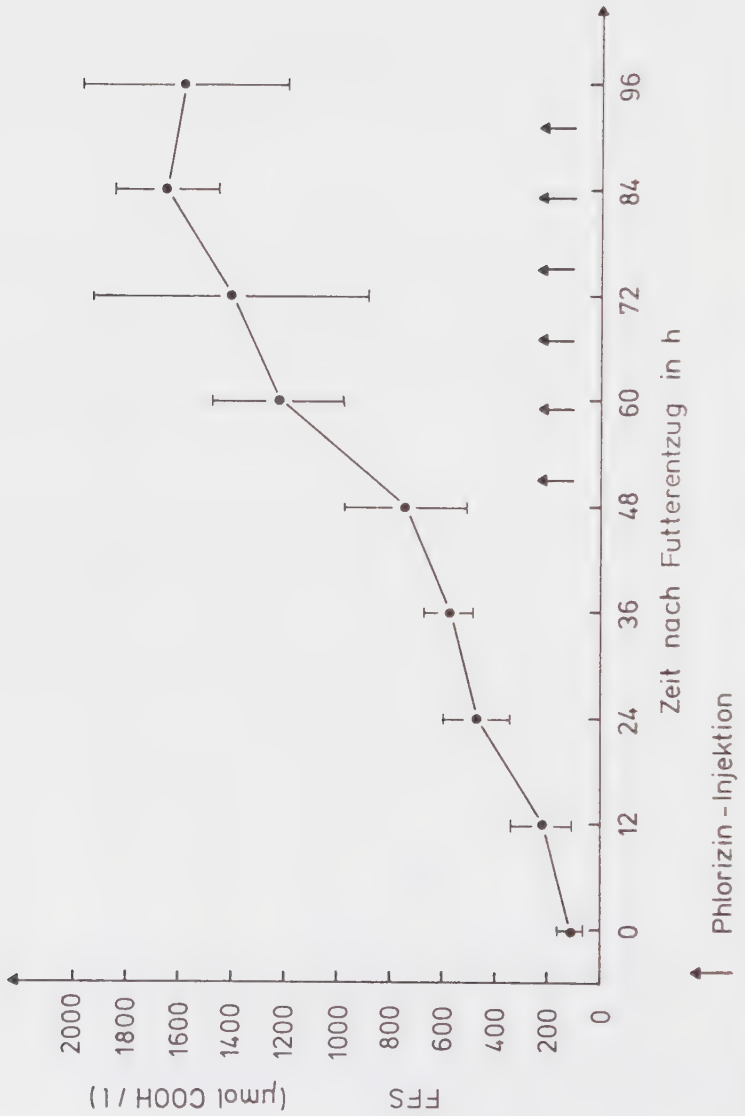


Abbildung 8: Freie Fettsäuren im Plasma ($\bar{x} \pm s$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

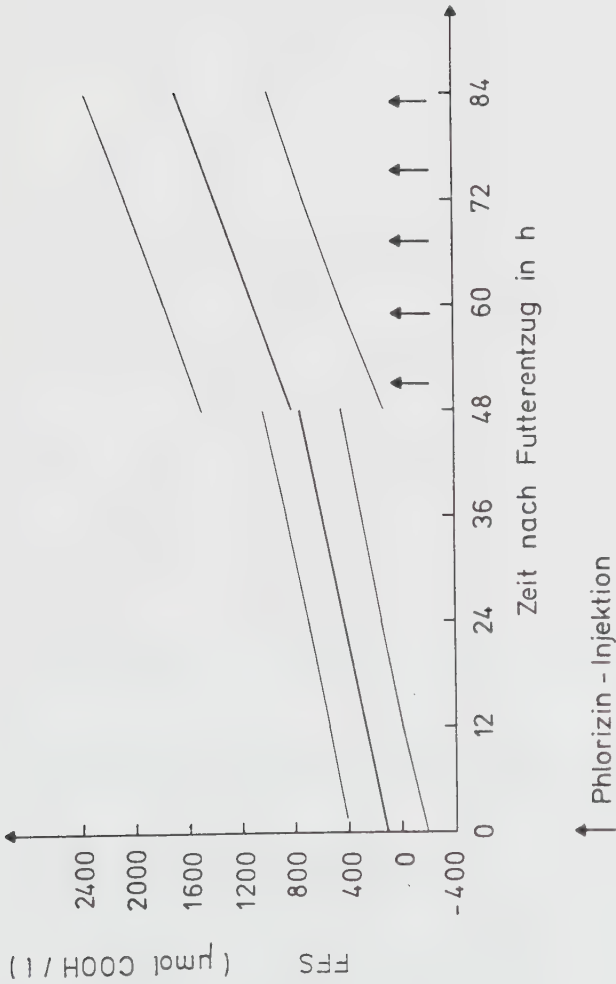


Abbildung 9: Freie Fettsäuren im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes
Darstellung als lineare Funktion (vgl. Text Seite 50)
(eingezeichnet ist der 95 % Vertrauensbereich)

Faktoren, wie z.B. Resorption des Phlorizins nach subkutaner Injektion, Höhe des Phlorizin-Spiegels im Blut sowie Wirkung von Phlorizin auf die Niere, Einfluß auf den Blutspiegel der FFS nahmen und damit die individuelle Variabilität bezüglich des Parameters FFS zunahm. Aus der Geradengleichung ergab sich bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes eine mittlere Konzentrationszunahme der FFS im Plasma von $23,9 \mu\text{mol COOH/l}$ pro Stunde bzw. von $286,8 \mu\text{mol COOH/l}$ pro 12 Stunden.

3.3.3. Glucose im Plasma bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

In den ersten 48 Stunden, also für den reinen Hungerzustand, zeigte die Glucosekonzentration im Plasma keinerlei signifikante Veränderungen (vgl. Tabelle 17). Unter Phlorizin-induzierter Glucosurie kam es am 3. bzw. 4. Tag nach Futterentzug zu einem signifikanten Abfall der Glucosekonzentration im Plasma ($p < 0,05$, $n = 7$). Sowohl der 60-Stunden-Wert ($p < 0,05$, $n = 7$) als auch der 72- bzw. 96-Stunden-Wert ($p < 0,01$, $n = 7$) waren signifikant gegenüber dem Nullwert erniedrigt. Allerdings nahm die Glucosekonzentration im Plasma nicht stetig ab, sondern es schien sich nach 72 Stunden ein neues Niveau einzustellen. Der Verlauf der Glucosekonzentration im Plasma in Abhängigkeit von der Dauer des Futterentzuges bzw. unter Phlorizin-Wirkung ist in Abbildung 10 wiedergegeben.

3.3.4. Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

Bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes war Allantoin mit Hypoxanthin, Xanthin sowie FFS negativ, dagegen mit Glucose positiv korreliert. Dabei war die Beziehung zwischen Allantoin und FFS mit $r = -0,829$ ($n = 60$; $p < 0,001$) besonders eng. Für die Oxypurine konnten z.T. entsprechend gegensätzliche Beziehungen

Tabelle 17:

Glucose im Plasma (mmol/l) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

	- Zeit nach Futterentzug in (h) -									
	0	12	24	36	48	*	60	72	84	96
$\bar{x}$	3,54a	3,32	3,47	3,55	3,63b		2,90c	2,48d	2,53	2,68e
s	0,38	0,33	0,26	0,51	0,24		0,55	0,19	0,22	0,24
n	7	7	7	7	7		7	7	5	7

* Beginn der Phlorizin-Gaben

a : c	}	a : d	}
b : c		b : d	
c : d		a : e	
		b : e	

$p < 0,05$ (n = 7) $p < 0,01$ (n = 7)

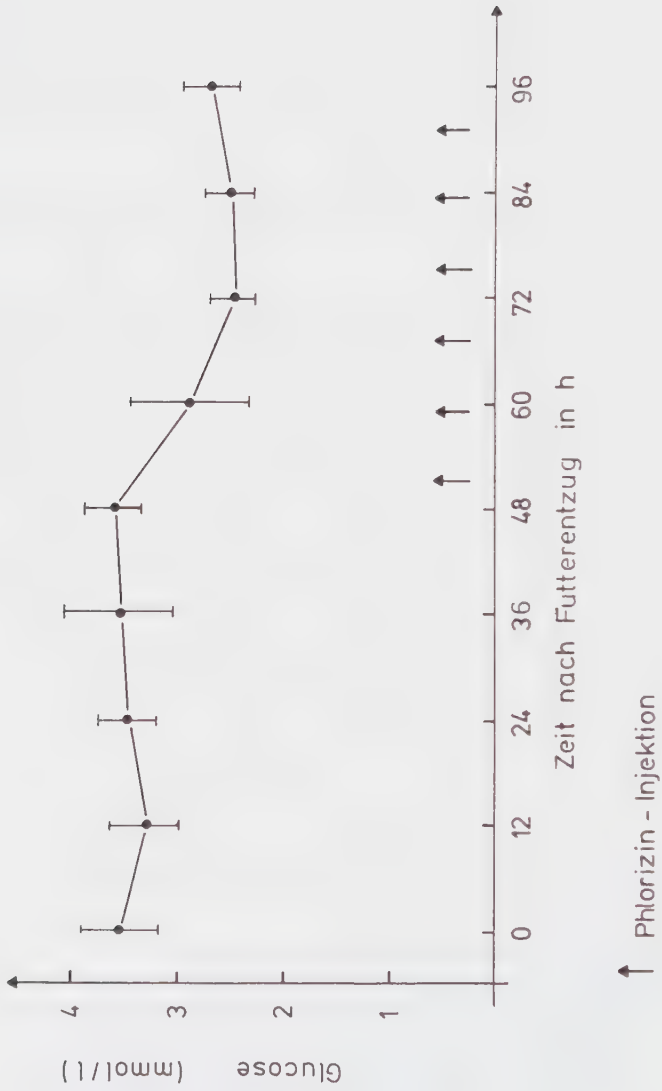


Abbildung 10: Glucose im Plasma ($\bar{x} \pm s$) bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

festgestellt werden (vgl. Tabelle 18). Außerdem waren Hypoxanthin und Xanthin untereinander mit $r = + 0,590$ ($n = 61$, $p < 0,001$) auffallend eng korreliert. Wie bereits in 3.1.4. erwähnt, zeigten Glucose und FFS nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion eine positive Korrelation (vgl. Tabelle 9), wogegen sich bei Futterentzug mit Phlorizin-induzierter Glucosurie eine negative Beziehung feststellen ließ (vgl. Tabelle 18).

FFS und Allantoin waren im Hunger/Phlorizin-Versuch, wie bereits oben erwähnt, negativ korreliert. Da die Verteilung der Wertepaare jedoch durch lineare Regression nur unzureichend beschrieben werden konnte, wurde ihr eine einfache Exponentialfunktion zugrunde gelegt (vgl. Abbildung 11). Die Beziehung zwischen FFS (x) und Allantoin (y) konnte durch folgende Gleichung beschrieben werden:

$$y = 134,958 \cdot 10^{-0,002x}$$

Der Korrelationskoeffizient ($r = - 0,8868$, $n = 60$) war mit $p < 0,001$ signifikant gegen Null. Mit der Erhöhung des Korrelationskoeffizienten von $- 0,829$ (vgl. Tabelle 18) auf $- 0,8868$ wurde deutlich, daß die Verteilung der Wertepaare mit einer Exponentialfunktion besser zu beschreiben war. Wie in Abbildung 11 dargestellt, nahm die Allantoinkonzentration im Plasma bei Verschärfung des katabolen Zustandes und damit verbundenem Anstieg der FFS im Plasma ab. Diese Beziehung dürfte jedoch kaum auf eine direkte Abhängigkeit zwischen den beiden Parametern zurückzuführen sein.

Tabelle 18:

Korrelationen der untersuchten Parameter bei Futter-
entzug und Phlorizin-Diabetes

	r	p	n
Hypoxanthin/Xanthin	+ 0,590	< 0,001	61
Hypoxanthin/Allantoin	- 0,294	< 0,05	60
Xanthin/Allantoin	- 0,275	< 0,05	58
FFS/Hypoxanthin	+ 0,412	< 0,001	63
FFS/Allantoin	- 0,829	< 0,001	60
Glucose/FFS	- 0,647	< 0,001	61
Glucose/Hypoxanthin	- 0,252	< 0,05	61
Glucose/Xanthin	- 0,401	< 0,01	59
Glucose/Allantoin	+ 0,546	< 0,001	58

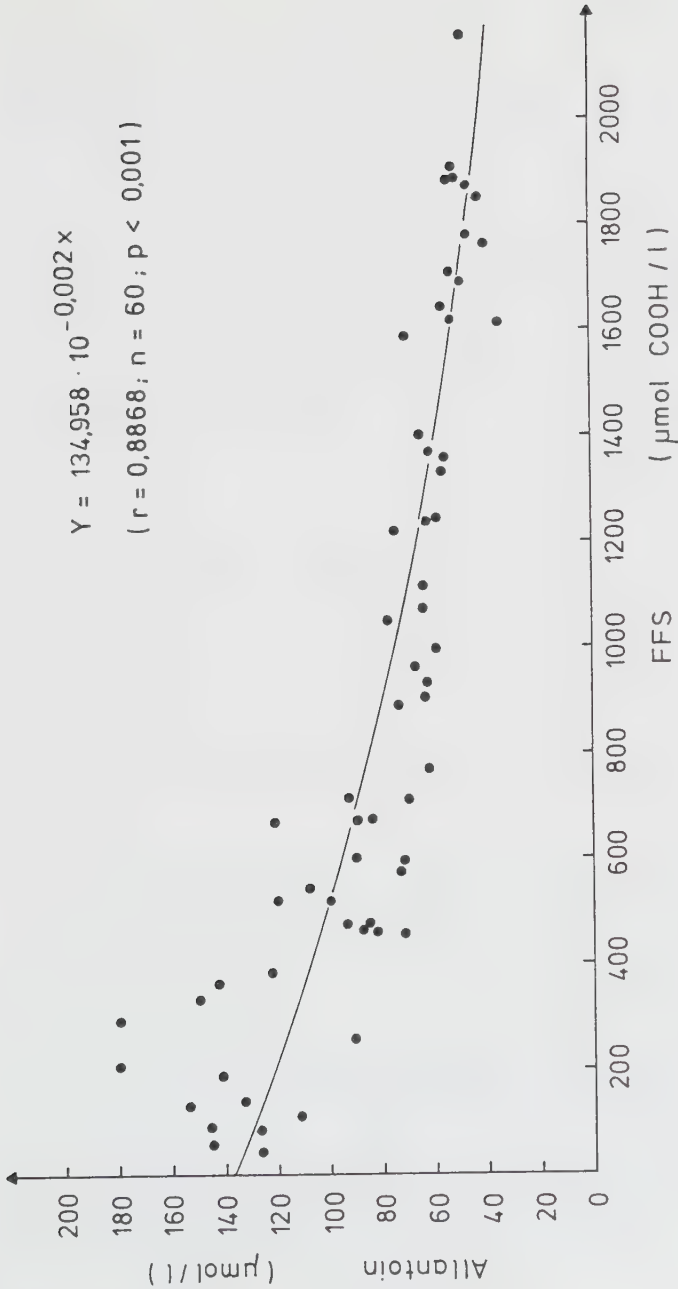


Abbildung 11: Beziehung zwischen Freien Fettsäuren und Allantoin im Plasma
bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es zunächst, eine empfindliche Meßmethode zu erarbeiten, mit der es möglich war, die z.T. recht niedrigen Konzentrationen der Purinmetaboliten im Plasma von Zwergziegen zu messen. Mit der Durchführung von Adrenalin-/Noradrenalin-Injektionen bzw. durch Futterentzug kombiniert mit Phlorizingaben sollten katabole Stoffwechselzustände erreicht werden, die einen Einblick in das Verhalten der Purinmetaboliten unter Belastungszuständen ermöglichen. Über die Bestimmung der FFS im Plasma stand ein Parameter zur Verfügung, mit dessen Hilfe sich der Grad der Belastung des Energiestoffwechsels in bewährter Weise (GIESECKE, 1983) beurteilen ließ.

Bei der Analytik konnte nicht für alle Purinmetaboliten, sondern nur für Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin eine simultane Bestimmung erarbeitet werden. In den untersuchten Plasmaproben erstreckte sich der Konzentrationsbereich für Harnsäure von ca. 1,4 bis 7,8 $\mu\text{mol/l}$, für Hypoxanthin von ca. 0,4 bis 7,6 $\mu\text{mol/l}$ und für Xanthin von ca. 0,3 bis 2,5 $\mu\text{mol/l}$. Da diese Konzentrationen mit der von TIEMEYER und GIESECKE (1982) erarbeiteten HPLC-Methode nicht mehr meßbar waren, wurden die Proben einer 5-fachen Konzentrierung unterzogen (siehe 2.4.3.). Mit Hilfe dieses Vorbereitungsverfahrens ließen sich Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin optimal in der Plasmaprobe bestimmen.

Die Allantoinkonzentration im Plasma bewegte sich während unserer Untersuchungen in einem Bereich von ca. 35 - 220 $\mu\text{mol/l}$ und war damit auch ohne Konzentrierung mit Hilfe der HPLC-Technik bestimmbar (siehe 2.4.2.).

Über die Konzentrationen von Purinmetaboliten im Blutplasma von Wiederkäuern liegen zur Zeit nur vereinzelte, größtenteils sehr verschiedenartige Angaben vor. Die Harnsäurekonzentration im Plasma von Zwergziegen lag in unseren Versuchen unter Normalbedingungen im Bereich von ca. 2 - 5 $\mu\text{mol/l}$. CASTRO et al. (1977) gaben für männliche kastrierte Zwergziegen 71,4 $\mu\text{mol/l}$ Harnsäure an, während AGNES et al. (1984) bei weiblichen Ziegen 13,09 $\mu\text{mol/l}$ Harnsäure im Plasma fanden. Im Rinderplasma wurden 23 $\mu\text{mol/l}$ (McMAHON et al., 1983) bzw. ca. 50 $\mu\text{mol/l}$ (ROUBICEK et al., 1970; McALLAN, 1980) gefunden. Die Hypoxanthinkonzentration im Plasma lag bei unseren Tieren unter Normalbedingungen ebenfalls im Bereich von ca. 2 - 5 $\mu\text{mol/l}$. McMAHON et al. (1983) fanden im Plasma von Rindern nur 68 nmol/l Hypoxanthin. Xanthin wurde von uns im Plasma unter Normalbedingungen in einer Konzentration von ca. 0,4 - 0,8 $\mu\text{mol/l}$ gefunden. McMAHON et al. (1983) gaben den Xanthingehalt im Plasma von Rindern mit 2 $\mu\text{mol/l}$ an. Allantoin stellt beim Wiederkäuer das Endprodukt des Purinabbaus dar und erreichte dementsprechend unter Normalbedingungen mit durchschnittlich 164 $\mu\text{mol/l}$ die höchste Konzentration der gemessenen Purinmetaboliten im Plasma. Vergleichbare Konzentrationen fand McALLAN (1980) mit ca. 170 $\mu\text{mol/l}$ bei Ochsen.

Über die Messung der Konzentration der FFS im Plasma gelang es, die behandlungsbedingten Belastungen des Energiestoffwechsels mit einem empfindlichen Parameter als Bezugsmethode zu kennzeichnen. Der nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion bei 4 Tieren beobachtete Anstieg gegenüber dem Normalwert um das 2- bis 5-fache stand in Einklang mit Untersuchungen von RADLOFF et al. (1966), SIDHU und EMERY (1972) und von BLUM et al. (1982). Vergleichbare Erhöhungen der FFS im Plasma konnten von AULI et al. (1971) bei Schafen unter Kältestreß nachgewiesen werden. Die bei Tier 1 und 2 gemessenen Konzentrationen wichen in ihrer extremen Ausprägung von den

Literaturangaben ab und dürften wohl eher als individuell bedingte Extremwerte angesehen werden. Bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes stiegen die FFS im Plasma nach 84 Stunden auf 1636,0 $\mu\text{mol COOH/l}$ an (Kontrolle: 116,1 $\mu\text{mol COOH/l}$). Vergleichbare Ergebnisse liegen von BAIRD et al. (1972), GÜNZEL und GIESECKE (1974), Di MARCO et al. (1981) und von BLUM et al. (1981) vor.

Die Verabreichung von Adrenalin und Noradrenalin führte bei den Zwergziegen zu einer Verdoppelung der Glucosekonzentration im Plasma. Dieses Ergebnis stimmte mit Untersuchungen von RADLOFF et al. (1966) an kastrierten männlichen Ziegen überein. Für FFS und Glucose im Plasma konnte unter Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin eine positive Korrelation ($r = + 0,516$, $p < 0,01$, $n = 36$) nachgewiesen werden. Diese Beziehung dürfte jedoch weniger auf Abhängigkeiten zwischen den Parametern selbst zurückzuführen sein, sondern vielmehr ein Ergebnis der Wirkung der Hormone Adrenalin und Noradrenalin sein. Im Gegensatz dazu waren FFS und Glucose im Hunger-/Phlorizin-Versuch negativ korreliert ($r = -0,647$, $p < 0,001$, $n = 61$), wobei eine signifikante Abnahme der Glucosekonzentration im Plasma erst nach Verabreichung von Phlorizin erkennbar war. Demnach bietet sich unter Belastungsbedingungen durch Ermittlung der Beziehung zwischen Glucose und FFS eine Möglichkeit, zwischen Stress und Energiemangel als Belastungsfaktoren zu differenzieren.

Durch die Injektion von Adrenalin und Noradrenalin konnte bei den Zwergziegen eine akute Stresssituation simuliert werden, was durch die Bestimmung der FFS im Plasma bestätigt wurde. Unter dieser kurzfristigen Belastung zeigten Harnsäure und Hypoxanthin keine signifikanten Veränderungen, jedoch andeutungsweise höhere Werte (vgl. Tabelle 3 und 4). Bei Xanthin war eine deutliche Tendenz zu erhöhten Konzentrationen im Plasma

zu erkennen, die sich bei ausreichender Tierzahl auch statistisch absichern ließe (vgl. Tabelle 5).

SUTTON et al. (1980) stellten beim Menschen unter körperlicher Belastung eine Erhöhung der Oxypurine (Hypoxanthin und Xanthin) im Plasma von 19 auf 50 $\mu\text{mol/l}$ fest. Vergleichbare Arbeiten wurden von PATTERSON et al. (1982) und HARKNESS et al. (1983) ebenfalls beim Menschen durchgeführt. Sie stellten einen Anstieg des Hypoxanthinspiegels von 1,6 $\mu\text{mol/l}$ auf 25,2 $\mu\text{mol/l}$ bzw. von 1,6 μmol auf 17,3 $\mu\text{mol/l}$ fest. Der Anstieg von Hypoxanthin im Plasma wurde auf den Verbrauch von ATP im Muskel zurückgeführt (MURRAY, 1971). In Abhängigkeit von der Dauer der Belastung kann es zu einem Anstieg der nachfolgenden Abbauprodukte kommen (PATTERSON et al., 1982; HARKNESS et al., 1983). SUTTON et al. (1980) ermittelten keinen Anstieg der Harnsäure bei intensiven Kurzzeitbelastungen bis 4 Minuten, jedoch eine deutliche Konzentrationserhöhung bei Dauerbelastung (5000m-Rennen, Marathonlauf). Die Ursache vermuteten sie in einer unterschiedlichen Dauer und Intensität der Hypoxie im Gewebe. Auch HARKNESS et al. (1983) fanden bei zweiminütiger Belastung des Menschen keine Veränderung der Harnsäure, jedoch eine starke Erhöhung von Hypoxanthin sowie eine leichte von Xanthin. SCHREIBER (1984) berichtete ebenfalls, daß Affen auf den Streß des Einfangens verbunden mit intensiver Bewegung offenbar mit einer Erhöhung der Hypoxanthinkonzentration im Blut reagierten. Inwieweit nun diese bei Mensch und Affe gemachten Beobachtungen auf den Wiederkäuer übertragen werden können, ist noch unklar.

Unter Streßbedingungen zeigte sich im Versuch eine signifikante Abnahme der Allantoinkonzentration im Plasma (vgl. Tabelle 6). Eine Erklärung dafür könnte darin liegen, daß durch die vasokonstriktorische Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin die Durchblutung der Leber verringert wurde. Bei Hund, Katze, Hase und

Affe wurde dieser Effekt von RICHARDSON und WITHRINGTON (1981) beschrieben. Damit kann möglicherweise die in den Peroxysomen der Leberzellen lokalisierte Uricase nicht mehr soviel Harnsäure in Allantoin umbauen, wodurch der Allantoin-Blutspiegel bei weiterer Ausscheidung absinkt.

Zusammenfassend konnte man erkennen, daß offenbar die Wirkungsdauer von Adrenalin bzw. Noradrenalin zu kurz war, um durchgreifende Änderungen im Purinstoffwechsel hervorzurufen. Möglicherweise vorhandene deutlichere Veränderungen wurden zudem vom wohl unveränderten Purineinstrom aus dem Gastrointestinal-Trakt überlagert.

Im Hunger-/Phlorizin-Versuch zeigte sich bei Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin in den ersten 48 Stunden eine Tendenz zu geringfügig abnehmenden Plasmakonzentrationen (vgl. Tabelle 12, 13 und 14). Als Folge des Futterentzuges dürfte es wohl zu einem nachlassenden Einstrom von Purinen aus dem Gastrointestinaltrakt gekommen sein. KAPLAN und POBIRSKII (1974) wiesen bereits darauf hin, daß zwischen der Purinkonzentration im Blut (Harnsäure und Allantoin) und dem Nucleinsäuregehalt im Pansen eine enge Beziehung besteht.

Mit zunehmender Dauer des Futterentzuges und unter Phlorizin-induzierter Glucosurie kam es zu einem teilweise signifikanten Anstieg von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin im Plasma (vgl. Tabelle 12, 13 und 14). Diese Zunahme von Purinen im Plasma unter verschärften katabolen Bedingungen läßt sich möglicherweise auf eine vermehrte Freisetzung von Purinen aus endogenen Quellen zurückführen. PABICO (1965) stellte beim Menschen unter Fastenbedingungen einen Anstieg von Harnsäure aus endogenen Quellen fest. Er führte die Hyperurikaemie während des Fastens auf eine vermehrte Produktion sowie auf eine

verminderte renale Ausscheidung zurück. FOX (1976) beobachtete ebenfalls beim Menschen nach Fasten einen Anstieg von Harnsäure im Serum bei gleichzeitig verringerter Harnsäure-Clearance.

Die Allantoinkonzentration im Plasma nahm im Hunger-/Phlorizin-Versuch mit annähernd exponentiellem Verlauf ab (vgl. Abbildung 6 und 7). Nach 84 Stunden war mit $51,19 \mu\text{mol/l}$ die niedrigste Plasmakonzentration erreicht, was einer Abnahme von 64 % gegenüber dem Tagesmittelwert unter Normalbedingungen entsprach. KAPLAN und POBIRSKII (1974) stellten an Bullen nach 4 Tagen Fasten mit 54 % eine vergleichbare Abnahme von Allantoin im Plasma fest.

Bei Bullen mit entleertem Pansen und Haube reichte 1 Tag Futterentzug aus, um bei der Allantoinkonzentration im Plasma ein minimales Niveau zu erreichen, das auch bei fortgesetztem Futterentzug nicht mehr unterschritten wurde (KAPLAN und POBIRSKII, 1974). Demnach kann man davon ausgehen, daß bei den Zwergziegen nach 72 bis 84 Stunden der Nachschub von Purinen aus dem Pansen erschöpft war, und in der Folgezeit die Allantoinkonzentration im Plasma nur noch auf endogene Quellen zurückzuführen war.

Wie bereits erwähnt, weisen Allantoin und Harnsäure im Plasma eine enge Beziehung ($r = 0,96$) zur Nucleinsäurekonzentration im Pansen auf (KAPLAN und POBIRSKII, 1974). Folglich würde man nach Futterentzug erwarten, daß es entsprechend dem Verlauf der Allantoinkonzentration im Plasma zu einer Abnahme von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin kommt. Im Hunger-/Phlorizin-Versuch jedoch stand einer Abnahme von Allantoin eine Zunahme von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin, zumindest in der Tendenz, gegenüber. Dies bestätigte sich

auch in den Beziehungen zwischen den einzelnen Purinmetaboliten: Hypoxanthin und Xanthin waren positiv korreliert ($r = + 0,590$), beide jedoch mit Allantoin negativ korreliert (vgl. Tabelle 18).

Möglicherweise kam es ohnehin nach Futterentzug zu einem mehr oder weniger deutlichen Abfall der gemessenen Purinmetaboliten im Plasma, der jedoch vom Anstieg der Purine aus endogenen Quellen überlagert wurde. Eine anderweitige Überlastung der Leber, z.B. durch β -Oxidation (FFS) sowie Gluconeogenese, könnte als Ursache für eine verminderte Bildung des Endproduktes Allantoin angesehen werden.

Schlußfolgerungen

Nach den Ergebnissen dieser Arbeit kommt es bei Zwergziegen nach kurzfristiger Belastung (Adrenalin und Noradrenalin) zu signifikanten Veränderungen von bestimmten Purin- und Energiemetaboliten im Plasma, die teils signifikant miteinander korreliert sind. Zur Charakterisierung der Belastungsintensität erscheinen erstere weniger geeignet, weil ihr Muster durch die aus Nucleinsäuren der Pansenflora gebildeten Purinmetaboliten zu stark überlagert wird. Außerdem sind Wiederkäuer an die rasche Elimination von Purinen in besonderer Weise adaptiert. Diese Nachteile dürften für andere Wiederkäuerarten in gleichem Maße zutreffen.

Langfristige Belastung durch Futterentzug und Phlorizin-Diabetes bewirkte signifikante Zunahmen der Oxypurine und eine signifikante Abnahme von Allantoin im Plasma. Diese Veränderungen waren teils mit solchen von FFS und Glucose signifikant korreliert, besonders deutlich bei FFS und Allantoin. Freie Fettsäuren sind nach wie vor für die Kennzeichnung kataboler Stoffwechselbedingungen unübertroffen. Der Allantoingehalt im Plasma erscheint aber wie bisher kein anderer

Metabolit geeignet, das Niveau der mikrobiellen Proteinbiosynthese im Pansen zu charakterisieren. Da diese Prozesse streng energieabhängig sind, kann der Allantoingehalt im Plasma über die Intensität des Pansenstoffwechsels Auskunft geben - eine Erfolg versprechende Ergänzung zur Kennzeichnung des intermediären Protein- und Energiestoffwechsels mittels Harnstoff und Freien Fettsäuren im Plasma. Diese besondere Eignung von Allantoin als Stoffwechselparameter sollte für alle Wiederkäuerarten Gültigkeit haben.

5. Zusammenfassung

Zur Klärung der Frage, inwieweit Purinmetaboliten im Blutplasma von Wiederkäuern als Beurteilungskriterium für Belastungszustände des Energiestoffwechsels herangezogen werden können, wurden in Versuchen an Zwergziegen Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin und Allantoin mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie quantitativ im Plasma erfaßt. Durch Verabreichung von Adrenalin und Noradrenalin wurden die Tiere einer kurzfristigen Streßbelastung ausgesetzt. Durch Futterentzug über 96 Stunden erfolgte eine Langzeitbelastung des Energiestoffwechsels, die außerdem am 3. und 4. Tag durch Phlorizin-Diabetes verschärft wurde. Die gleichzeitige Bestimmung von Freien Fettsäuren (FFS) und Glucose im Plasma diente der vergleichenden Beurteilung mit bekannten Parametern.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Unter Adrenalin-/Noradrenalin-Wirkung zeigten die Konzentrationen von Harnsäure und von Hypoxanthin im Plasma keine signifikanten Veränderungen. Bei Xanthin zeichnete sich ein deutlicher Anstieg der Plasmakonzentration ab. Die Allantoinkonzentration im Plasma nahm 60, 120 und 180 Minuten nach Versuchsbeginn signifikant ab.

2. Im Hungerzustand nahm die Konzentration der Oxypurine im Plasma bis 48 Stunden nach Futterentzug geringfügig ab. In der Folge waren unter verstärkt katabolen Bedingungen signifikante Zunahmen festzustellen.

3. Die Allantoinkonzentration im Plasma nahm bei Futterentzug (+ Phlorizin) mit annähernd exponentiellem Verlauf ab, bis nach 84 Stunden die niedrigste Konzentration im Plasma (-64 %) erreicht wurde.

4. Die Konzentration der FFS im Plasma stieg sowohl nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion als auch nach Futterentzug jeweils signifikant an.

5. Nach Injektion von Adrenalin und Noradrenalin stieg die Glucosekonzentration im Plasma signifikant an. Bei Futterentzug zeigte sich erst unter Phlorizin-induzierter Glucosurie eine signifikante Abnahme im Plasma.

6. Sowohl im Adrenalin-/Noradrenalin- als auch im Hunger-/Phlorizin-Versuch zeigten die Purinmetaboliten untereinander sowie zu FFS und Glucose signifikante Beziehungen. Dabei waren FFS und Allantoin bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes besonders eng korreliert ($r = -0,829$, $p < 0,001$, $n = 60$).

Die Ergebnisse wurden im Hinblick auf den Purinstoffwechsel der Wiederkäuer diskutiert und Schlußfolgerungen bezüglich der Verwendbarkeit der Purinmetaboliten zur Bewertung der Stoffwechsellage gezogen.

Summary

Purine metabolites in blood plasma samples of pigmy goats under metabolic stress conditions

Uric acid, hypoxanthine, xanthine and allantoin were recorded quantitatively by means of high pressure liquid chromatography to establish to what extent purine metabolites in the plasma of pigmy goats could be used for the evaluation of metabolic stress conditions in ruminants.

The animals were subjected to short term stress by administration of adrenaline and noradrenaline. A fasting period of 96 hours caused long term stress in the metabolism. This was intensified by phlorizin glucosuria on the third and fourth day of fasting. The simultaneous determination of free fatty acids and glucose in plasma were included as reference metabolites.

The following results were achieved:

1. Uric acid and hypoxanthine showed no significant changes under the influence of adrenaline/noradrenaline. With xanthine, the plasma concentration increased consistently. The allantoin concentration in plasma decreased significantly at 60, 120 and 180 minutes after the start of the experiment.
2. During fasting, the concentration of oxypurines decreased slightly in the first 48 hours. Thereafter, under more severe catabolic conditions, significant increases were observed.

3. The concentration of allantoin in the plasma decreased under fasting conditions (+ phlorizin) following an approximate exponential course. After 84 hours of fasting the lowest concentration in the plasma (-64 %) was measured.
4. The concentration of free fatty acids in the plasma increased significantly both in the adrenaline/noradrenaline and in the fasting/phlorizin experiments.
5. A significant increase in the plasma glucose concentration was noted after the injection of adrenaline and noradrenaline. During fasting, a significant decrease in the plasma occurred only under phlorizin glucosuria.
6. In both the adrenaline/noradrenaline and the fasting/phlorizin experiments the purine metabolites showed significant relations to each other as well as to the free fatty acids and glucose. Especially, free fatty acids and allantoin were very closely correlated during fasting and phlorizin glucosuria ($r = -0,829$; $n = 60$; $p < 0,001$).

The results were discussed with regard to the purine metabolism of ruminants and conclusions were drawn concerning the usefulness of purine metabolites for the evaluation of metabolism.

6. Literaturverzeichnis

AGNES, F.; ARRIGONI, C.; BAGLIONI, T.; LOCATELLI, A. u.
SARTORELLI, P.; 1984

Comportamento di alcuni parametri ematochimici
nella capra confinata in spazio ristretto
(The effect of confinement stress on some blood
chemical values in the goat)

La Clinica Veterinaria 107 (8/9), 245 - 248

AL-KHALIDI, U.A.S. u. CHAGLASSIAN, T.H.; 1965

The species distribution of xanthine oxidase

Biochem. J. 97, 318 - 320

ANNISON, E. F.; 1960

Plasma non-esterified fatty acids in sheep

Austr. J. agric. Res. 11, 58-64

AULIE, A.; ASTRUP, H.N.; NEDKVITNE, J.J. u. VELLE, W.;
1971

Serum non-esterified fatty acids and plasma
glycerol as indicators of fat mobilization in
pregnant sheep subjected to cold stress

Acta vet. scand. 12, 496 - 503

BAIRD, G.D.; HEITZMAN, R.J. u. HIBITT, K.G.; 1972

Effects of starvation on intermediary metabolism
in the lactating cow

Biochem. J. 128, 1311 - 1318

BAUMAN, D.E.; 1976

Intermediary metabolism of adipose tissue

Fed. Proc. 35, 2308

BERGMAYER, H.U.; 1974

Methoden der enzymatischen Analyse
3.Auflage
Verlag Chemie Weinheim/Bergstraße

BLUM, J.W. u. KUNZ, P.; 1981

Metabolic effects of fasting in steers

Res. Vet. Sci. 31, 127 - 129

BLUM, J.W.; FROEHLI, D. u. KUNZ, P.; 1982

Effects of catecholamines on plasma free fatty acids in fed and fasted cattle

Endocrinology 110, 452

BRAUN, J.S.; 1971

Freie Fettsäuren im Serum.

I. Modifikation des Titrationsverfahrens nach DOLE und TROUT

Z. klin. Chem. u. klin. Biochemie 9, 383 - 386

CASTRO, A.; DHINDSA, D.S.; HOVERSLAND, A.S.; MALKUS, H.; ROSENTHIEL, C. u. METCALFE, J.; 1977

Serum biochemistry values in normal pygmy goats

Am. J. Vet. Res. 38 (12), 2085 - 2087

DI MARCO, N.M.; BEITZ, D.C. u. WHITEHURST, G.B.; 1981

Effect of fasting on non-esterified fatty acids, glycerol and cholesterol concentrations in blood plasma and lipoprotein lipase activity in adipose tissue of cattle

J. Anim. Sci. 52, 75 - 82

DOCUMENTA GEIGY, 1968

Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage

Redaktion: K. Diem u. C. Leutner

Hrsg.: J.R. Geigy AG; Pharma, Basel

DOLE, V.P.; 1956

A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose

J. clin. Invest. 35, 150 - 154

EL FOULY, H.A. u. KAMAL, T.H.; 1979

Effect of short-term heat exposure on urinary
allantoin-N in Friesian calves

Wld. Rev. Anim. Prod. 15 (2), 61 - 64

ELLIS, W.C. u. BLEICHNER, K.C.; 1969

Apparent utilization of absorbed purines by sheep

J. Anim. Sci. 29, 157

FENN, K.; 1985

Über den Purinstoffwechsel der Leber des Schweines

Vet. Med. Diss., München

FOX, I.H.; 1974

Purine ribonucleotide catabolism:
Clinical and biochemical significance

Nutr. Metabol. 16, 65-78

FOX, I.H.; HALPERIN, M.L.; GOLDSTEIN, M.B. u.
MARLISS, E.B.; 1976

Renal excretion of uric acid during prolonged
fasting

Metabolism 25 (5), 551 - 559

GIESECKE, D. u. STANGASSINGER, M.; 1982

Limits of metabolic performance in high-yielding
dairy cows

Animal Res. and Developm. 16, 95 - 102

GIESECKE, D.; 1983

The pools of cellular nutrients:
Plasma free fatty acids.
In: P.M. Riis (Ed.)
Dynamic Biochemistry of Animal Production

Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam
197 - 214

GIESECKE, D.; STANGASSINGER, M. u. TIEMEYER, W.; 1984

Nucleic acid digestion and urinary purine metabolites in sheep nourished by intragastric infusions

Can. J. Anim. Sci. 64, 144 - 145

GÜNZEL, R. u. GIESECKE, D.; 1974

Der Einfluß der Fütterung, des Fastens und des Phlorizin-Diabetes auf die Beziehung zwischen Freien Fettsäuren und Glucose im Blut von Schafen

Zbl. Vet. Med. A, 21, 279 - 284

HARKNESS, R.A.; SIMMONDS, R.J. u. COADE, S.B.; 1983

Purine transport and metabolism in man: the effect of exercise on concentrations of purine bases, nucleosides and nucleotides in plasma, urine, leucocytes and erythrocytes.

Clin. Sci. 64, 333 - 340

KAPLAN, V.A. u. POBIRSKII, N.N.; 1974

Purine metabolism in ruminants

Sel' skochozjaistvennaja Biologija 9 (1), 91 - 95

KARLSON, P.; 1980

Kurzes Lehrbuch der Biochemie
11. Auflage Georg Thieme Verlag, Stuttgart

LÖFFLER, G.; 1975

Stoffwechsel der Purine und Pyrimidine
In: Physiologische Chemie , 453 - 471
Harper, Löffler, Petrides, Weiss
Springer Verlag, Berlin

MAIER, J.; 1979

Untersuchungen zur Eignung des Dalmatiner-Hundes als Modell für alimentäre Hyperuricaemie

Vet. med. Diss., München

McALLAN, A.B. u. SMITH, R.H.; 1973 a

Degradation of nucleic acids in the rumen

Br. J. Nutr. 29 (2), 331 - 345

McALLAN, A.B. u. SMITH, R.H.; 1973 b

Degradation of nucleic acid derivatives by rumen bacteria in vitro

Br. J. Nutr. 29, 467 - 474

McALLAN, A.B.; 1980

The degradation of nucleic acids in, and the removal of breakdown products from the small intestine of steers

Br. J. Nutr. 44, 99 - 112

McALLAN, A.B.; 1982

The fate of nucleic acids in ruminants

Proc. Nutr. Soc. 41, 309 - 317

McMAHON, K.K.; LESNIEWSKI, R.R. u. FISCHER, A.G.; 1983

Purine nucleoside and purine base concentrations in bovine thyroid and plasma

Int. J. Biochem. 15 (7), 947 - 952

McDOWELL, G.H.; 1983

Hormonal control of glucose homoeostasis in ruminants

Proc. Nutr. Soc. 42, 149 - 167

MORGAN, E.J.; 1926

The distribution of xanthine oxidase 1.

Biochem. J. 20, 1282 - 1291

MURRAY, A.W.; 1971

The biological significance of purine salvage

Ann. Rev. Biochem. 40, 811 - 826

PABICO, R.C.; CANFIELD, C.J. u. BARRY, K.G.; 1965

The effects of acute total caloric starvation on
uric acid metabolism in obese human subjects

Clin. Res. 13, 45

PATTERSON, D.S.P.; 1963

Some observations on the estimation of non-
esterified fatty acid concentrations in cow and
sheep plasma

Res. Vet. Sci. 4, 230 - 237

PATTERSON, V.H.; KAISER, K.K. u. BROOKE, M.H.; 1982

Forearm exercise increases plasma hypoxanthine

J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 45, 552 - 553

PEHRSON, B.; 1971

Studies of the blood lipid pattern in healthy
dairy cows.

Acta vet. scand. 12, 230 - 242

RADLOFF, H.D. u. SCHULTZ, L.H.; 1966

Hormonal regulation of plasma free fatty acid
concentration in ruminants

J. Dairy Sci. 49, 971 - 975

RAZZAQUE, M.A. u. TOPPS, J.H.; 1972

Utilization of dietary nucleic acids by sheep

Proc. Nutr. Soc. 31, 105 A - 106 A

RAZZAQUE, M.A.; TOPPS, J.H.; GOODALL, E.D. u. KAY,
R.N.B.; 1973

Metabolism of nucleic acids by sheep and red deer

Proc. Nutr. Soc. 32, 59 A

RAZZAQUE, M.A. u. TOPPS, J.H.; 1978

Determination of hypoxanthine, xanthine and uric acid in ruminants urine

J. Sci. Fd. Agric. 29 (11), 935 - 939

RAZZAQUE, M.A.; TOPPS, J.H.; KAY, R.N.B. u. BROCKWAY, J.M.; 1981

Metabolism of the nucleic acids of rumen bacteria by preruminant and ruminant lambs

Br. J. Nutr. 45 (3), 517 - 527

RICHARDSON, P.D.I. u. WITHRINGTON, P.G.; 1981

Liver blood flow

II. Effects of drugs and hormones on liver blood flow

Gastroenterology 81, 356 - 375

ROUBICEK, C.B.; RAY, D.E. u. HALE, W.H.; 1970

Blood creatinine and uric acid concentrations in unsupplemented range cattle

J. Am. Sci. 30, 675 - 680

SACHS, L.; 1984

Angewandte Statistik

6. Auflage, Springer Verlag, Berlin

SCHARRER, E.; RAAB, W.; TIEMEYER, W. u. AMANN, B.; 1981

Active absorption of hypoxanthine by lamp jejunum in vitro

Pflügers Arch. 391, 41 - 43

SCHREIBER, G.; 1984

Purinmetabolite im Serum verschiedener Primaten

Vet. Med. Diss., München

SCHWEDT, G.; 1979

Chromatographische Trennmethode

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

SIDHU, K.S. u. EMERY, R.S.; 1972

Regulation of blood fatty acids and glycerol in lactating cows

J. Dairy Sci. 55, 926 - 930

SMITH, R.C.; MOUSSA, N.M. u. HAWKINS, G.E.; 1974

Utilization of the nucleic acids of Escherichia coli and rumen bacteria by sheep

Br. J. Nutr. 32, 529 - 537

SMITH, R.H. u. McALLAN, A.B.; 1970

Nucleic acid metabolism in the ruminant

Br. J. Nutr. 24, 545 - 556

SMITH, R.H. u. McALLAN, A.B.; 1971

Nucleic acid metabolism in the ruminant

Br. J. Nutr. 25, 181 - 190

SMITH, R.H.; McALLAN, A.B.; HEWITT, D. u. LEWIS, P.E.; 1978

Estimation of amounts of microbial and dietary nitrogen compounds entering the duodenum of cattle

J. agric. Sci., Camb., 90, 557 - 568

SÖRENSEN, L.B.; 1965

Role of intestinal tract in the elimination of uric acid

Arthritis Rheum. 8, 964 - 706

SUTTON, J.R.; TOEWS, C.J.; WARD, G.R. u. FOX, I.H.; 1980

Purine metabolism during strenuous muscular exercise in man

Metabolism 29 (3), 254 - 260

TIEMEYER, W.; GAEBLER, S. u. GIESECKE, D.; 1981

HPLC-Analytik von Nucleinsäuren in Nahrungsmitteln
sowie von Nucleinsäuremetaboliten in Stoffwechsel-
untersuchungen

Landwirtsch. Forsch., Sonderh. 38, 441 - 448

TIEMEYER, W. u. GIESECKE, D.; 1982

Quantitative determination of allantoin in
biological fluids by reversed-phase high-pressure
liquid chromatography

Anal. Biochem. 123, 11 - 13

TIEMEYER, W.; STOHRER, M. u. GIESECKE, D.; 1984

Metabolites of nucleic acids in bovine milk

J. Dairy Sci. 67, 723 - 728

TOPPS, J.H. u. ELLIOT, R.C.; 1965

Relationship between concentrations of ruminal
nucleic acids and excretion of purine derivatives
by sheep

Nature (Lond.) 205, 498 - 499

WATTS, R.W.E.; 1981

Purine metabolism

Biochem. Soc. Transact. 9 (1), 3 - 5

YOUNG, J.W.; SCHMIDT, S.P.; AKOWUAH, E.S.; HESS, G.S.
u. MCGILLIARD, A.D.; 1974

Effects of phlorizin on glucose kinetics in the
bovine

J. Dairy Sci. 57 (6), 689 - 694

ZÖLLNER, N.; 1982

Purine and pyrimidine metabolism

Proc. Nutr. Soc. 41, 329 - 342

7. Tabellenanhang: Einzelwerte

Tabelle A 3:

Harnsäure im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen (Zustand 1)
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

Tier	Zustand	0	35	60	75	120	180	240	min.
1	1	3,50	-	3,55	-	3,85	4,43	3,32	
	2	4,87	5,97	5,33	5,76	5,24	5,63a	4,84	
2	1	2,61	-	2,54	-	2,58	1,97	2,94	
	2	7,82a	7,27	6,40	8,11	4,61	3,89	3,59	
3	1	4,71	-	4,43	-	4,34	3,76	4,50	
	2	4,38	3,68	3,30	3,83	2,81	4,05	3,55	
5	1	3,60	-	4,55	-	11,23*b	9,31*a	6,67*a	
	2	3,29	3,20	3,48	3,73	3,39	3,62	3,52	
6	1	4,35	-	3,79	-	3,60	4,24	4,33	
	2	3,96	2,63	3,76	4,06	3,68	4,04	4,53	
7	1	3,67	-	4,33	-	4,13	4,22	3,99	
	2	3,55	2,76	3,66	3,62	2,61	3,26	3,35	

* Hämolyse

a Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer

b Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Tabelle A 4:

Hypoxanthin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen (Zustand 1)
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

Tier	Zustand	0	35	60	75	120	180	240	min.
1	1	1,61	-	3,40	-	4,11	3,92	3,57	
	2	4,09	3,05	5,71	3,54	3,78	2,99	4,98	
2	1	4,06	-	2,82	-	2,66	2,56	3,51	
	2	0,57 ^b	0,68	0,74	0,79	0,43a	0,83	1,02	
3	1	3,68	-	3,17	-	3,32	2,90	3,29	
	2	3,56	2,83	2,68	3,88	3,07	4,06	4,55	
5	1	4,64	-	2,72	-	1,17*	1,45*	2,31*	
	2	3,26	2,16	2,55	2,18	2,49	2,29	3,49	
6	1	5,70	-	3,04	-	3,15	3,98	3,93	
	2	3,92	4,03	6,16	4,66	3,23	4,01	5,15	
7	1	3,60	-	4,22	-	4,49	3,50	4,64	
	2	4,05	3,18	4,44	4,62	2,95	3,18	2,93	

* Hämolyse

a Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißerb Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Tabelle A 5:

Xanthin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen (Zustand 1)
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

Tier	Zustand	0	35	60	75	120	180	240 min.
1	1	0,99	-	1,79b	-	1,96c	1,66a	1,26b
	2	1,10	1,00	2,04	0,94	0,97	0,80	0,94
2	1	0,49	-	0,48	-	0,41	0,48	0,49
	2	n.m.	n.m.	n.m.	0,29	n.m.	0,52	0,60
3	1	0,87	-	0,66	-	0,80	0,48	0,68
	2	1,44	1,29	1,28	1,31	1,57	1,16	1,16
5	1	1,19	-	0,71	-	0,85*	2,87*a	3,40*c
	2	0,59	1,79	2,48	1,93	1,90	1,03	1,21
6	1	1,03	-	0,73	-	0,63	0,90	0,71
	2	0,92	1,02	1,46	1,23	0,88	0,90	0,92
7	1	0,68	-	1,06	-	0,71	0,48	0,53
	2	0,86	1,24	1,50	1,97	1,26	1,45	1,09

* Hämolyse

n.m. = nicht meßbar

a Extremwert mit $p < 0,1$ Ausreißer
 b Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer
 c Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
 (nach SACHS, 1984)

Tabelle A 6:

Allantoin im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen (Zustand 1)
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

Tier	Zustand	0	35	60	75	120	180	240	min.
1	1	118,32	-	127,58	-	144,99	120,43	114,21	
	2	122,76	125,87	106,32	108,87	109,46	112,21	117,65	
2	1	189,35	-	177,91	-	180,30	135,87	158,32	
	2	124,01	103,14	113,50	123,28	135,34	113,21	122,58	
3	1	179,44	-	182,62	-	182,56	179,84	165,22	
	2	183,30	155,07	152,83	161,83	146,95	160,33	146,97	
5	1	145,29	-	172,52	-	187,51*	163,70*	174,86*	
	2	147,85	127,45	111,45	101,43	156,17	138,38	132,48	
6	1	179,20	-	167,02	-	138,57	156,09	142,76	
	2	176,94	147,47	136,12	145,79	164,81	159,10	164,21	
7	1	183,20	-	183,80	-	204,48	188,48	175,51	
	2	218,71	178,50	167,45	160,63	160,96	177,84	187,51	

* Hämolyse

Tabelle A 7:

Freie Fettsäuren im Plasma ($\mu\text{mol COOH/l}$) unter Normalbedingungen (Zustand 1)
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

Tier	Zustand	0	35	60	75	120	180	240	min.
1	1	-	-	82,7	-	128,6	173,9	214,8	
	2	199,0	895,4	1170,8	748,0	203,4	123,6	109,3	
2	1	131,5	-	83,9	-	95,8	439,6 ^b	319,3	
	2	579,4 ^b	1582,5	1342,3	1577,5	227,4	221,5 ^a	109,8	
3	1	121,0	-	58,6	-	42,9	95,0	237,0	
	2	130,9	406,9	282,5	316,1	93,8	78,9	71,6	
5	1	232,9	-	91,9	-	146,7	165,1	146,5	
	2	98,2	350,0	250,9	235,6	88,8	93,8	123,6	
6	1	129,6	-	108,6	-	125,3	187,7	200,8	
	2	77,0	378,2	248,4	354,9	93,6	95,0	88,4	
7	1	168,1	-	132,0	-	145,8	143,4	224,8	
	2	179,9	727,3	535,7	875,5	147,7	132,5	153,0	

a Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer

b Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Tabelle A 8:

Glucose im Plasma (mmol/l) unter Normalbedingungen (Zustand 1)
und nach Adrenalin-/Noradrenalin-Injektion (Zustand 2)

Tier	Zustand	0	35	60	75	120	180	240	min.
1	1	3,85	-	3,68	-	3,47	3,59	3,19	
	2	3,08	6,81	7,00	8,14	7,42	6,57	4,92	
2	1	3,74	-	3,64	-	3,86	5,22 ^b	5,00 ^b	
	2	4,39 ^a	11,93 ^b	12,35 ^b	12,75 ^b	11,45 ^a	6,02	3,80	
3	1	3,05	-	2,86	-	3,05	3,08	2,98	
	2	3,32	7,37	7,20	7,96	6,75	5,57	4,79	
5	1	3,19	-	3,22	-	3,53	3,31	3,48	
	2	3,55	7,36	7,17	7,79	5,98	4,05	2,93	
6	1	3,03	-	3,03	-	3,65	3,12	3,46	
	2	3,17	6,94	6,99	7,35	5,77	4,54	3,51	
7	1	2,83	-	3,14	-	3,43	3,57	3,45	
	2	3,15	6,26	6,19	6,90	5,00	4,13	3,06	

a Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer

b Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Tabelle A 10:

Purine im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) unter Normalbedingungen

Parameter	Tier	8.00	11.00	14.00	17.00	20.00 Uhr
Harnsäure	1	2,55	3,19	3,82*	3,36	3,59
	2	2,57	2,40	2,69	2,62	2,71
	3	4,38	3,28	2,91	3,03	2,77
	5	2,51	2,55	3,09	3,59	2,62
	6	3,50	2,08	2,32	2,29	2,51
	7	0,90#	3,19	1,85#	2,32	1,30#
	9	3,19	3,25	3,04	3,41	3,40
Hypo-xanthin	1	2,45	2,68	4,45*	3,15	3,20
	2	4,14	3,73	4,42	3,86	3,97
	3	5,03	3,45	3,25	2,46	3,36
	5	1,60	1,85	2,12	2,11	1,56
	6	3,99	3,94	3,88	4,26	3,94
	7	1,09#	4,07	2,62#	2,70	2,18#
	9	3,20	2,88	2,44	2,81	3,45
Xanthin	1	0,80	1,31 ^c	1,43 ^a	1,24 ^c	1,18 ^b
	2	0,56	0,71	0,80	0,60	0,64
	3	0,50	0,57	0,55	0,44	0,50
	5	0,44	0,42	0,42	0,45	0,31
	6	0,50	0,58	0,45	0,45	0,49
	7	0,20#	0,58	0,29#	0,30	0,24#
	9	0,28	0,44	0,27	0,32	0,43
Allantoin	1	115,58	125,41	131,90*	125,96	137,38
	2	139,92	147,84	143,33	134,46	145,40
	3	224,80	204,48	186,24	159,37	171,09
	5	93,51	99,69	94,35	82,49	102,38
	6	123,91	136,82	132,92	118,87	130,82
	7	169,11	192,82	176,52	165,97	173,71
	9	154,56	172,36	140,30	155,62	141,70

* Hämolyse

beim Lyophilisieren
übergeschäumt

a Extremwert mit $p < 0,1$ Ausreißer

b Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer

c Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Tabelle A 11:

Freie Fettsäuren und Glucose im Plasma unter
Normalbedingungen

Tier	8.00	11.00	14.00	17.00	20.00 Uhr
FFS ($\mu\text{mol COOH/l}$)					
1	-	254,7	268,1	222,1	117,5
2	446,1	288,2	201,3	313,3	133,1
3	163,9	196,1	206,8	141,0	154,2
5	656,8	354,5	300,6	291,5	157,9
6	129,7	112,4	78,2	169,6	35,9
7	67,6	45,9	98,6	111,9	8,9
9	119,7	334,0	291,5	261,5	186,1
Glucose (mmol/l)					
1	4,04	3,32	4,12	3,88	4,46
2	3,71	3,25	4,19	3,64	3,56
3	3,43	3,31	3,76	3,76	4,39
5	3,24	3,73	3,65	4,05	4,16
6	3,06	3,45	3,86	3,09	3,73
7	3,29	2,85	3,86	3,54	3,44
9	2,93	3,37	4,08	3,76	3,64

Tabelle A 12/13: Harnsäure und Hypoxanthin im Plasma
bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

Tier	- Zeit nach Futterentzug in (h) -						72	84	96
	0	12	24	36	48	60			

* Hämolyse
a Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Tabelle A 14/15: Xanthin und Allantoin im Plasma
bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

Tier	- Zeit nach Futterentzug in (h) -								84	96
	0	12	24	36	48	60	72			
									</	

* Hämolyse

- a Extremwert mit $p < 0,1$ Ausreißer
b Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer
c Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Tabelle A 16/17: Freie Fettsäuren und Glucose im Plasma
bei Futterentzug und Phlorizin-Diabetes

Tier	- Zeit nach Futterentzug in (h) -								
	0	12	24	36	48	60	72	84	96
					FFS	($\mu\text{mol COOH/l}$)			
1	41,9	59,4	256,8	472,5	595,5	903,3	929,6	1884,9	1903,8
2	128,7	328,9	384,5	602,6	960,3	1240,3	1879,0	1759,6	1701,2
3	138,5	206,4	664,0	712,0	1149,0	1355,3	2152,7	1610,4	1848,5
5	90,5	86,4	473,2	466,5	513,9	886,1	1231,2	1396,0	1624,1
6	117,0	222,2	456,7	587,3	576,3	1587,3	1705,6	1786,0	1878,6
7	109,8	289,8	538,8	670,3	708,6	1329,6	772,9	1380,2	995,5
9	186,1	352,1	516,9	512,2	673,9	1215,5	1112,8	1635,1	1071,4
					Glucose	(mmol/l)			
1	3,06	3,36	3,20	2,98	3,51	2,11	2,26	2,16	2,64
2	4,05	3,75	3,42	4,00	3,65	2,67	2,61	2,61	2,86
3	3,92	2,97	3,78	3,47	3,24	3,02	2,59	2,50	2,72
5	3,30	2,87	3,41	4,46	4,06	3,44	2,36	4,27 ^b	2,54
6	3,66	3,51	3,24	3,48	3,68	3,04	2,39	3,61 ^a	2,34
7	3,18	3,16	3,35	3,21	3,65	2,37	2,34	2,66	2,59
9	3,64	3,61	3,87	3,25	3,59	3,63	2,80	2,72	3,09

a Extremwert mit $p < 0,05$ Ausreißer
b Extremwert mit $p < 0,01$ Ausreißer
(nach SACHS, 1984)

Besonders danken möchte ich Herrn Professor Dr. D. Giesecke für die Überlassung des Themas und die stets gern gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Herrn M. Stohrer danke ich für seine freundliche Beratung bei der Entwicklung der Purinmetabolitenanalytik.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei allen anderen Mitarbeitern des Labors, insbesondere bei Frau S. Lutz, für die Hilfe bei der Versuchsauswertung.

LEBENS LAUF

Name: Hubert RAINER

Geburtstag: 08. 11. 1957

Geburtsort: Straubing

Eltern: Hubert Rainer, Maurer
Emma Rainer, geb. Böhm, Hausfrau

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: verheiratet mit Renate Rainer,
geb. Heinrich

Ausbildung: 1964 - 1969
Volksschule Pönning-Perkam
1969 - 1972
Humanistisches Gymnasium
Schweiklberg
1972 - 1978
Humanistisches Gymnasium
Straubing
1978 - 1985
LMU München, Tierärztliche
Fakultät

Approbation: 27. 03. 1985

Wehrdienst: 02. 04. 1979 - 30. 06. 1980

Derzeitige Tätigkeit: Doktorand bei Prof.Dr.D.Giesecke
Institut für Physiologie,
Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der
Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

